

Síntese Biomimética e Caracterização de Novos Derivados da Acridina

Margarida Linhares

Mestrado em Química

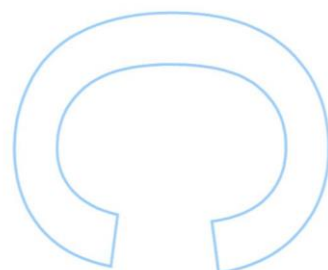
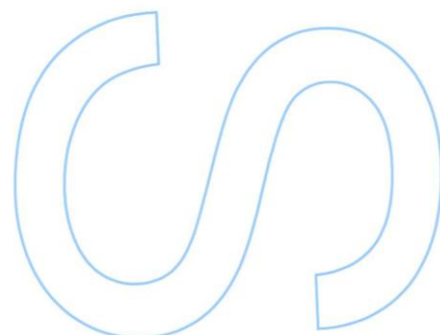
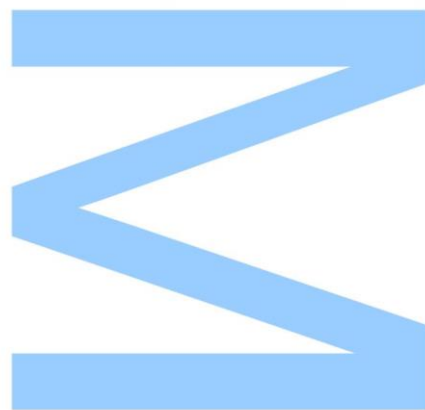
Departamento de Química e Bioquímica
2013

Orientador

Ana Cristina Freire, Professora Associada, Faculdade de Ciências

Coorientador

Susana Luísa Henriques Rebelo, Investigadora do REQUIMTE,
Faculdade de Ciências

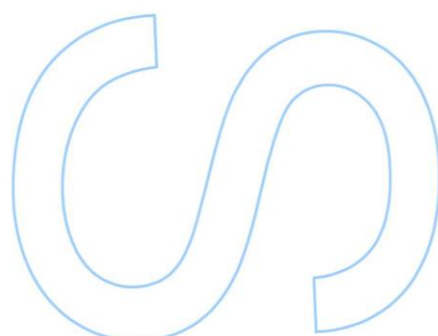
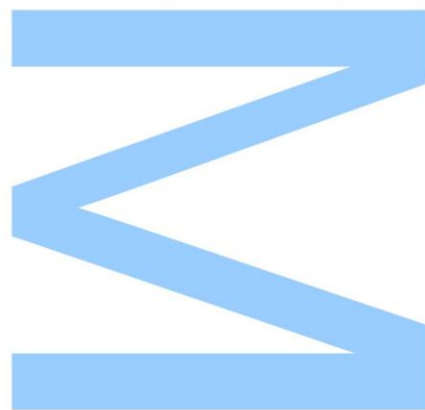




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Agradecimentos

Ao Departamento de Química e Bioquímica da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, por me ter aceite no Mestrado em Química.

À minha orientadora, Professora Doutora Ana Cristina Freire, pela confiança, preocupação, disponibilidade constante e conhecimento transmitido.

À minha coorientadora, Doutora Susana Rebelo, pelo conhecimento, paciência, ajuda e preocupação.

Ao Professor Doutor Alexandre Magalhães e ao Doutor Krzysztof Biernacki pela colaboração e ajuda nos estudos teóricos computacionais.

À Doutora Andreia Peixoto e ao Doutor Carlos Granadeiro, pela disponibilidade e ajuda prestada sempre que solicitada.

Aos meus colegas de laboratório, especialmente à Paula Costa, Mariana Rocha, Marta Nunes e Mariana Araújo pela boa disposição e por todos os conselhos.

Aos meus amigos, especialmente à Sofia Duarte, Inês Gomes, Maria Cordeiro e Vânia Gomes, pela constante preocupação, ajuda e amizade.

Ao João, por todo o apoio, carinho e paciência.

Aos meus Pais, irmão e irmãs pela confiança, apoio e constante presença.

Resumo

O mecanismo de oxigenação realizado pelo grupo prostético do citocromo P450 inspirou o uso de metaloporfirinas como catalisadores em reações de oxidação. Com base no facto destas mono-oxigenases mediarem oxidações, mesmo de compostos xenobióticos inertes e apolares, as metaloporfirinas têm sido utilizadas como catalisadores biomiméticos na oxidação de vários compostos orgânicos. Entre estes, os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.

O trabalho descrito nesta dissertação teve por base a oxidação da acridina recorrendo a um sistema de catálise biomimética oxidativa. O substrato foi oxidado à temperatura ambiente, utilizando peróxido de hidrogénio como oxidante “verde”, na presença da metaloporfirina cloro[*meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês(III) ([Mn(TDCPP)Cl]) e do cocatalisador, acetato de amónio.

Desta forma, foram obtidos novos compostos funcionalizados nas posições periféricas da acridina, nomeadamente monoepóxidos, diepóxidos, tetraepóxidos e um derivado hidroxilado, com diferentes rendimentos consoante a extensão da reação. Estes compostos foram caracterizados por estudos de espectroscopia de RMN e de espectrometria de massa.

Os estudos incluíram também a realização de cálculos teóricos computacionais que permitiram a confirmação das estruturas dos novos derivados da acridina e uma melhor compreensão da reatividade da oxidação.

A reação num único passo levou à formação de novas moléculas facilmente funcionalizáveis e poderá estar na origem do desenvolvimento de novas vias de síntese, para a obtenção de compostos importantes para aplicações biológicas e fotoquímicas.

Palavras-chave

Oxidação, metaloporfirina, catálise biomimética, acridina, peróxido de hidrogénio

Abstract

The oxygenation mechanism performed by the prosthetic group of cytochrome P450 has inspired the use of metalloporphyrins as catalysts for oxidation reactions. Based on the fact that this mono-oxygenases mediate oxidations even of inert and apolar xenobiotic substrates, the metalloporphyrins have been used as biomimetic catalysts for the oxidation of innumerable organic substrates. Among these, the polycyclic aromatic hydrocarbons.

The work described in this thesis is based on the oxidation of acridine by oxidative biomimetic catalysis. The substrate was oxidised at room temperature, using hydrogen peroxide as a green oxidant, in the presence of the metalloporphyrin chloro[*meso*-tetrakis(2,6-dichlorophenyl)porphyrinate]manganese(III) chloride ([Mn(TDCPP)Cl]) and of the co-catalyst, ammonium acetate.

Thus, new compounds functionalized on the peripheral positions of acridine, namely monoepoxides, diepoxides, tetraepoxides, and a hidroxyolated derivative, were obtained with different yields depending on the extent of the reaction. These compounds were characterized by NMR spectroscopy and mass spectrometry studies.

The studies also included computational theoretical calculations that allowed the confirmation of the structures of the new acridine derivatives and a greater understanding of the reactivity of the oxidation.

The one-step reaction led to the formation of new easily functionalizable molecules and might be the source for the development of new synthesis routes, to obtain important compounds for biological and photochemical applications.

Keywords

Oxidation, metalloporphyrin, biomimetic catalysis, acridine, hydrogen peroxide

Índice Geral

Agradecimentos.....	i
Resumo	iii
Abstract	v
Índice Geral	vii
Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas	xiii
Abreviaturas	xv
Capítulo I - Introdução	1
1.1 Eossustentabilidade de reações de oxidação.....	3
1.2 Catálise biomimética oxidativa	4
1.3 Citocromo P450	5
1.3.1 Ciclo catalítico do citocromo P450	6
1.3.2 Reações catalisadas pelo citocromo P450	8
1.4 Metaloporfirinas	9
1.4.1 Características das porfirinas	9
1.4.2 Metaloporfirinas como modelo do citocromo P450	10
1.4.2.1 Mecanismo de ativação do agente oxidante.....	10
1.4.2.2 Metaloporfirinas de manganês.....	11
1.5 Acridina.....	12
1.5.1 Aplicações da acridina.....	13
1.5.1.1 Aplicações biológicas	14
1.5.1.2 Aplicações fotoquímicas	16
1.5.2 Síntese de derivados da acridina	16
Capítulo II – Execução Experimental	19
2.1 Reagentes e solventes.....	21
2.2 Instrumentação	22
2.3 Cálculos teóricos.....	22
2.4 Síntese.....	22

2.4.1 Síntese da <i>meso</i> -tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina.....	22
2.4.2 Síntese da cloro[<i>meso</i> -tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês(III)	23
2.4.3 Oxidação da acridina	24
2.4.4 Reação da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina com a 4-etilanilina em micro-ondas	29
Capítulo III – Novos Derivados da Acridina.....	31
3.1 Oxidação da acridina (1)	34
3.1.1 Ataque nucleófilo na diepoxiacridina	37
3.2 Caracterização dos produtos	38
3.2.1 Caracterização da 1:2-epoxiacridina (2).....	39
3.2.2 Caracterização da 4-hidroxiacridina (3).....	45
3.2.3 Caracterização da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4).....	50
3.2.4 Caracterização da <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5).....	55
3.2.5 Caracterização da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6)	60
3.2.6 Caracterização da 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7)	65
3.2.7 Caracterização dos compostos <i>anti</i> , <i>anti</i> -1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina (8a) e (8b)	70
3.2.8 Caracterização da 1-(4'-etilfenilamino)-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (9)	72
Capítulo IV – Estudos Teóricos Computacionais	73
4.1 Confirmação estrutural	75
4.1.1 A molécula de acridina (1) como referência.....	75
4.1.2 Confirmação da estrutura da 1:2-epoxiacridina (2)	77
4.1.3 Confirmação da estrutura da 4-hidroxiacridina (3)	78
4.1.4 Atribuição das configurações <i>anti</i> e <i>sin</i> aos diastereoisómeros da diepoxiacridina .	79
4.1.5 Atribuição da estereoquímica dos tetraepóxidos	81
4.2 Estudos de reatividade.....	86
4.2.1 Epoxidação <i>versus</i> hidroxilação	86
4.2.2 Abertura do anel de epóxido por nucleófilos	89
Considerações Finais	93
Referências Bibliográficas	97

Índice de Figuras

Fig. 1.1 – Estrutura da metaloporfirina heme b.	5
Fig. 1.2 – Estrutura do citocromo P450: a) cadeia proteica; b) centro prostético.	6
Fig. 1.3 – Ciclo catalítico de ativação do centro ativo do citocromo P450, com indicação da “ponte de peróxido”.	7
Fig. 1.4 – Esquema de reações de oxidação catalisadas pelo citocromo P450.	8
Fig. 1.5 – Representação de um anel porfirínico com indicação das posições <i>meso</i> e β -pirrólicas.	9
Fig. 1.6 – Esquema do mecanismo de ativação do agente oxidante por uma metaloporfirina.	11
Fig. 1.7 – Estrutura da metaloporfirina [Mn(TDCPP)Cl].	12
Fig. 1.8 – Estrutura da acridina.	13
Fig. 1.9 – Representação de diferentes sistemas de numeração da acridina.	13
Fig. 1.10 – Esquema da intercalação de moléculas derivadas da acridina no ADN.	14
Fig. 1.11 – Derivados da acridina: a) com atividade anticancerígena; b) com propriedades de ligação ao ADN; c) com propriedades inibidoras da topoisomerase.	15
Fig. 1.12 – Estrutura da acriflavina (d) e da quinacrina (e).	15
Fig. 1.13 – Exemplos de sínteses de derivados da acridina.	17
Fig. 2.1 – Espectros de UV/Visível da a) H ₂ TDCPP e da b) [Mn(TDCPP)Cl].	24
Fig. 3.1 – Reação de oxidação da acridina (1) e produtos obtidos.	33
Fig. 3.2 – Apresentação da separação cromatográfica da mistura reacional da oxidação da acridina (1) na condição I.	34
Fig. 3.3 – Apresentação das separações cromatográficas da mistura reacional da oxidação da acridina (1) na condição II.	35
Fig. 3.4 – Esquema da reação de abertura do epóxido da diepoxiacridina (4).	37
Fig. 3.5 – Espectro de RMN de ¹ H da acridina (1).	38
Fig. 3.6 – Espectro de RMN de ¹ H da 1:2-epoxiacridina (2).	39
Fig. 3.7 – Expansão do espectro de NOESY da 1:2-epoxiacridina (2).	40

Fig. 3.8 – Espectro de COSY da 1:2-epoxiacridina (2).....	40
Fig. 3.9 – Espectro de RMN de ^{13}C da 1:2-epoxiacridina (2), juntamente com a experiência APT.	41
Fig. 3.10 – Espectro de HSQC da 1:2-epoxiacridina (2).	42
Fig. 3.11 – Expansão do espectro de HMBC da 1:2-epoxiacridina (2) na zona ^{13}C alifática.	43
Fig. 3.12 – Expansão do espectro de HMBC da 1:2-epoxiacridina (2) na zona ^{13}C aromática.....	43
Fig. 3.13 – Espectro de massa da 1:2-epoxiacridina (2).	44
Fig. 3.14 – Espectro de RMN de ^1H da 4-hidroxiacridina (3).....	45
Fig. 3.15 – Espectro de NOESY da 4-hidroxiacridina (3).	46
Fig. 3.16 – Espectro de COSY da 4-hidroxiacridina (3).	46
Fig. 3.17 – Espectro de RMN de ^{13}C da 4-hidroxiacridina (3), juntamente com a experiência APT.	47
Fig. 3.18 – Espectro de HSQC da 4-hidroxiacridina (3).	48
Fig. 3.19 – Espectro de HMBC da 4-hidroxiacridina (3).	49
Fig. 3.20 – Espectro de massa da 4-hidroxiacridina (3).	49
Fig. 3.21 – Espectro de RMN de ^1H da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4).	50
Fig. 3.22 – Espectro de COSY da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4).	51
Fig. 3.23 – Espectro de RMN de ^{13}C da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4), juntamente com a experiência APT.....	52
Fig. 3.24 – Espectro de HSQC da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4).....	53
Fig. 3.25 – Espectro de HMBC da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4).....	54
Fig. 3.26 – Espectro de massa da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4).....	54
Fig. 3.27 – Espectro de RMN de ^1H da <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5).	56
Fig. 3.28 – Espectro de COSY da <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5).	56
Fig. 3.29 – Espectro de RMN de ^{13}C da <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5), juntamente com a experiência APT.	57
Fig. 3.30 – Espectro de HSQC da <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5).....	58

Fig. 3.31 – Espectro de HMBC da <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5).....	59
Fig. 3.32 – Espectro de massa da <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5).....	60
Fig. 3.33 – Espectro de RMN de ^1H da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).....	61
Fig. 3.34 – Espectro de COSY da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).	61
Fig. 3.35 – Expansão do espectro de NOESY da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).	62
Fig. 3.36 – Espectro de RMN de ^{13}C da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6), juntamente com a experiência APT.	63
Fig. 3.37 – Espectro de HSQC da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).	63
Fig. 3.38 – Espectro de HMBC da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).....	64
Fig. 3.39 – Espectro de massa da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).....	65
Fig. 3.40 – Espectro de RMN de ^1H da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).	66
Fig. 3.41 – Espectro de COSY da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).....	66
Fig. 3.42 – Espectro de RMN de ^{13}C da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7), juntamente com a experiência APT.	67
Fig. 3.43 – Espectro de HSQC da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).....	68
Fig. 3.44 – Espectro de HMBC da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).	69
Fig. 3.45 – Espectro de massa da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).	69
Fig. 3.46 – Espectro de RMN de ^1H da mistura de isômeros <i>anti,anti</i> -1:2,3:4,5:6,7:8- tetraepoxiacridina (8a) e (8b).....	71
Fig. 3.47 – Espectro de massa da mistura de isômeros <i>anti,anti</i> -1:2,3:4,5:6,7:8- tetraepoxiacridina (8a) e (8b).....	71
Fig. 3.48 – Estrutura do composto 1-(4'etilfenilamino)-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (9).72	
Fig. 4.1 – Estrutura da acridina (1) na conformação de menor energia.....	76
Fig. 4.2 – Estrutura 3D das moléculas 1:2-epoxiacridina (2) e 3:4-epoxiacridina (2a). 77	
Fig. 4.3 – Representação 3D dos dois enantiômeros da 1:2-epoxiacridina (2).	77
Fig. 4.4 – Estrutura 3D das moléculas 4-hidroxiacridina (3) e 1-hidroxiacridina (3a)... 79	
Fig. 4.5 – Estrutura 3D das moléculas <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4) e <i>sin</i> -1:2,3:4- diepoxiacridina (5).	80

Fig. 4.6 – Estrutura 3D de dois isómeros <i>anti,anti</i> da molécula 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina, aa1 e aa2	82
Fig. 4.7 – Estrutura 3D de dois isómeros <i>sin,anti</i> da molécula 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina, sa1 e sa2	83
Fig. 4.8 – Estrutura 3D de dois isómeros <i>sin,sin</i> da molécula 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina, ss1 e ss2	84
Fig. 4.9 – Estrutura 3D dos dois isómeros óticos do composto 8a	86
Fig. 4.10 – Mecanismo da reação de hidroxilação catalisada pela metaloporfirina [Mn(TDCPP)Cl].....	87
Fig. 4.11 – Mapa de potencial eletrostático sobre a superfície de isodensidade de 0,0004 e/a ₀ ³ da acridina (1).....	87
Fig. 4.12 – Valores de carga potencial ESP calculados para a molécula da acridina (1).	88
Fig. 4.13 – Valores de carga potencial ESP calculados para a molécula da 1:2-epoxiacridina (2).	89
Fig. 4.14 – Valores de carga potencial ESP calculados para a molécula da 3:4-epoxiacridina (2a).	89
Fig. 4.15 – Mapa de potencial eletrostático sobre uma superfície de isodensidade de 0,0004 e/a ₀ ³ <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4).	90
Fig. 4.16 – Valores de carga potencial ESP calculados para a molécula da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4).	90
Fig. 4.17 – Esquema da reação de abertura de epóxido na 1:2,3:4-diepoxiacridina pela 4-etilanilina.	90

Índice de Tabelas

Tabela 3.1 – Condições utilizadas na oxidação da acridina (1).	34
Tabela 3.2 – Conversão do substrato e rendimento dos produtos obtidos nas condições I, II e III.....	36
Tabela 3.3 – Desvios químicos de RMN de ^{13}C dos compostos <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4) e <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5).	59
Tabela 4.1 – Comparação entre os valores de δ de RMN de ^1H experimentais e teóricos da acridina (1).	76
Tabela 4.2 - Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais da 1:2-epoxiacridina (2) com os valores teóricos da mesma molécula e da 3:4-epoxiacridina (2a).	78
Tabela 4.3 - Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais da 4-hidroxiacridina (3) com os valores teóricos da mesma molécula e da 1-hidroxiacridina (3a).	79
Tabela 4.4 - Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais da <i>anti</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (4) com os valores teóricos da mesma molécula e do isômero <i>sin</i>	80
Tabela 4.5 - Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais da <i>sin</i> -1:2,3:4-diepoxiacridina (5) com os valores teóricos da mesma molécula e do isômero <i>anti</i>	81
Tabela 4.6 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto 8a com os valores teóricos dos isômeros <i>anti,anti</i> , aa1 e aa2	82
Tabela 4.7 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto 8b com os valores teóricos dos isômeros <i>anti,anti</i> , aa1 e aa2	82
Tabela 4.8 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto 8a com os valores teóricos dos isômeros <i>sin,anti</i> , sa1 e sa2	83
Tabela 4.9 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto 8b com os valores teóricos dos isômeros <i>sin,anti</i> , sa1 e sa2	84
Tabela 4.10 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto 8a com os valores teóricos dos isômeros <i>sin,sin</i> , ss1 e ss2	85

Tabela 4.11 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto 8b com os valores teóricos dos isômeros <i>sin, sin</i> , ss1 e ss2	85
---	----

Abreviaturas

AcOEt	Acetato de etilo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APT	Experiência dos prótons diretamente ligados
ARN	Ácido ribonucleico
COSY	Espectroscopia de correlação homonuclear
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
ddd	Duplo dupleto de dupletos
dt	Duplo tripleto
DFT	Teoria do funcional da densidade
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
EI	Espectrometria de massa com ionização por impacto eletrônico
EM	Espectrometria de massa
Eq.	Equivalentes molares
ESP	Carga de potencial eletrostático
H ₂ TDCPP	<i>meso</i> -Tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina
HMBC	Espectroscopia de correlação heteronuclear de múltiplas ligações
HSQC	Espectroscopia de correlação heteronuclear de quantum-simples
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
<i>J</i>	Constante de acoplamento (em Hz)
m	Multiplete
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
M ⁺	Ião molecular
MetOH	Metanol
[Mn(TDCPP)Cl]	Cloro[<i>meso</i> -tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês(III)
NOESY	Espectroscopia de correlação do efeito Overhauser nuclear
ppm	Partes por milhão
RMN	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear
s	Singuleto
t	Tripleto
TLC	Cromatografia de camada fina
UV/Visível	Espectrofotometria de ultravioleta-visível

λ

Comprimento de onda (em nm)

Capítulo I

Introdução

Capítulo I - Introdução

A sociedade, filha de uma industrialização galopante, é cada vez mais exigente, impondo eficiência e qualidade ao mais baixo custo. Por outro lado, devido ao efeito secundário nefasto dessa mesma industrialização, a sociedade exige agora que haja também uma consciência ecológica, a par desta produção industrial intensa.

A Indústria Química, como uma das maiores a nível mundial, tem agora a necessidade de tornar os seus processos cada vez mais sustentáveis. O objetivo prende-se em obter produtos com pouco ou nenhum impacto na Natureza e, ao mesmo tempo, de forma rentável. A introdução da catálise nos processos químicos foi um passo essencial para a possibilidade de atingir este objetivo, uma vez que a utilização de catalisadores permite novas vias com menores energias de ativação levando a processos eficientes, seletivos e realizados em condições mais suaves, nomeadamente com menor gasto energético^[1]. Atualmente, cerca de 85% a 90% dos processos químicos industriais requerem a utilização de um catalisador^[2]. Apesar disto, a sociedade ainda está muito longe de ter uma indústria química completamente baseada em processos “verdes”, em que a produção seja tão rentável como seria sem a preocupação ambiental, facto que impulsiona o constante aumento da investigação na área da Química Sustentável.

1.1 Ecssustentabilidade de reações de oxidação

A oxidação é uma das reações mais importantes em síntese orgânica, tendo um papel essencial em muitos processos industriais. No entanto, torna-se cada vez mais premente a diminuição do impacto ambiental dos processos químicos utilizados nestas transformações, nomeadamente, a substituição de oxidantes utilizados em condições estequiométricas, como os dicromatos ou permanganatos, que levam à produção de quantidades exponenciais de resíduos indesejáveis, corrosivos e tóxicos.

Os oxidantes mais usados nos sistemas biológicos são o oxigénio molecular ou o peróxido de hidrogénio. Estes seriam também os oxidantes ideais para aplicação na indústria química devido à sua acessibilidade e baixo custo; por outro lado, a sua utilização não leva à produção de resíduos indesejáveis para o ambiente. No entanto, estes oxidantes requerem uma ativação de forma a possibilitar que os processos sejam eficientes e seletivos^[3].

A grande necessidade de desenvolver processos catalíticos “verdes” capazes de acelerar este tipo de reações de uma forma seletiva e em condições ambientalmente compatíveis levou a considerar os sistemas biológicos como fonte de inspiração e, conseqüentemente, à biomimetização de processos metabólicos^[4].

1.2 Catálise biomimética oxidativa

In vivo, as reações de oxidação ocorrem essencialmente pela ação catalítica de metaloenzimas, que promovem a ativação de oxidantes considerados verdes, como o oxigénio molecular e o peróxido de hidrogénio. Estas reações ocorrem em condições suaves e eco compatíveis e os processos podem ser muito seletivos e, por vezes, inéditos para a atual indústria química. Desta forma, os centros prostéticos destas enzimas têm sido usados como modelo para a síntese de complexos metálicos com propriedades catalíticas semelhantes^[5, 6].

Entre as enzimas envolvidas na ativação do oxigénio ou do peróxido de hidrogénio, encontram-se as hemoproteínas, nomeadamente o citocromo P450, a peroxidase ou a catalase^[7].

O grupo heme b é uma metaloporfirina, a protoporfirina IX complexada com ferro(II) (figura 1.1). No caso das enzimas referidas, o grupo prostético é um grupo análogo ao heme b em que o ferro se encontra no estado de oxidação (+3) e as diferenças no modo de ação entre as três classes de enzimas são atribuídas aos resíduos de aminoácido que coordenam axialmente o ião metálico ou que se encontram na proximidade do centro ativo^[7]. Conseqüentemente, as metaloporfirinas foram introduzidas na catálise oxidativa, e alguns derivados específicos têm mostrado ser excelentes modelos do citocromo P450 na oxidação seletiva de vários compostos orgânicos, tais como terpenos, esteróides, alcenos, alcanos e hidrocarbonetos aromáticos^[8-17]. Nos estudos foi também evidenciado o papel relevante dos grupos substituintes do núcleo porfirínico, assim como do centro metálico e das condições da reação para a obtenção de processos eficientes^[18].

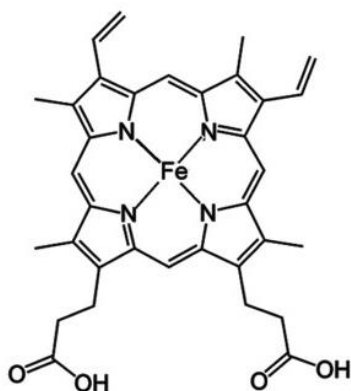


Fig. 1.1 – Estrutura da metaloporfirina heme b^[19].

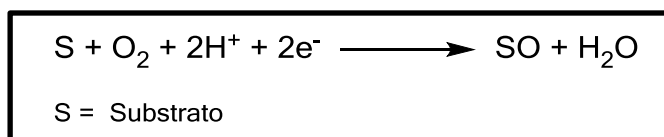
1.3 Citocromo P450

O citocromo P450 é uma superfamília de metaloenzimas com um papel essencial no metabolismo dos seres vivos, atuando em várias funções biológicas^[20].

Destas, destacam-se as oxidações de compostos xenobióticos pela ativação do oxigénio molecular, para a obtenção de produtos hidrofílicos e de mais fácil excreção^[21]. No ser humano, o citocromo P450 está presente em quase todos os órgãos, essencialmente nos rins, no fígado, no intestino e nos pulmões^[20].

A designação “citocromo” refere-se a “pigmento celular” enquanto o número 450 refere-se à banda intensa no espectro de Visível, de máxima absorção a 450 nm, observável quando a enzima se encontra na sua forma reduzida complexada com monóxido de carbono, que corresponde à banda Soret do grupo [(heme)-Fe(II)-CO]^[22].

A reação de oxigenação catalisada por esta hemoproteína está representada na equação 1.1. Neste processo, o NADH ou NADPH fornecem os equivalentes redutores necessários, sendo regenerados *in vivo* num processo distinto. Enquanto esta reação ocorre de forma régio e estereoseletiva sob condições fisiológicas de pressão e temperatura, a mesma reação não catalisada apenas ocorreria a elevadas temperaturas, sendo que não beneficiaria da mesma seletividade^[20, 23, 24].



Equação 1.1 – Mono-oxigenação de substratos orgânicos pelo oxigénio molecular promovida pelo citocromo P450.

Na figura 1.2 está representada a estrutura do citocromo P450 com as suas duas partes distintas: a cadeia proteica (figura 1.2a) e centro prostético (figura 1.2b)^[25].

A natureza da cadeia proteica está diretamente relacionada com a função biológica a desempenhar pela metaloenzima no metabolismo, desta forma existem várias espécies do citocromo P450, e daí vem a qualificação de “superfamília”^[20].

Como indicado anteriormente, o centro prostético do citocromo baseia-se num complexo designado de heme b, tendo um resíduo de cisteína como quinto ligando^[23].

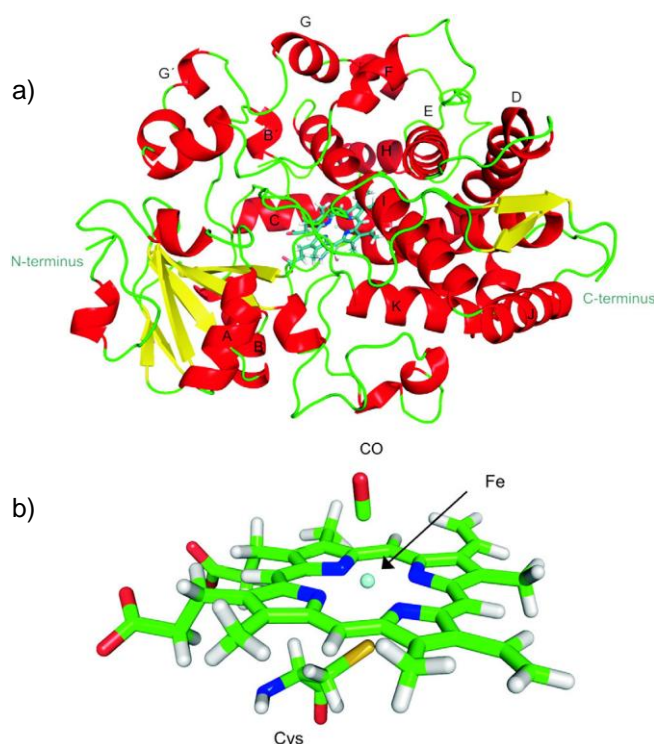


Fig. 1.2 – Estrutura do citocromo P450: a) cadeia proteica; b) centro prostético^[25].

1.3.1 Ciclo catalítico do citocromo P450

A ação do citocromo P450 na ativação do oxigénio molecular segue o ciclo catalítico representado na figura 1.3^[26].

Inicialmente, o ião metálico encontra-se no estado de oxidação 3+ e com número de coordenação seis devido à coordenação com uma molécula de água, apresentando desta forma uma geometria octaédrica (i). A introdução do substrato no centro ativo provoca a remoção da molécula de água, o que leva a uma redução no número de coordenação do metal (ii). Assim sendo, o Fe^{3+} é facilmente reduzido a Fe^{2+} captando um eletrão proveniente da NADPH (iii).

Nesta fase, o complexo reduzido de ferro coordena com o oxigénio molecular, provocando o aumento do número de oxidação do metal para 3+ e o regresso à estrutura hexacoordenada (iv). Este complexo capta novamente um eletrão, fazendo com que o peroxo-complexo de ferro se comporte como uma base de Lewis, sofrendo facilmente protonação (v). O complexo assim formado sofre uma segunda protonação, e posteriormente a eliminação de uma molécula de água. É então formado o oxo-complexo de ferro- π -catião radical (vi) – este complexo por vezes é tomado por um oxo-complexo de ferro(V)^[27].

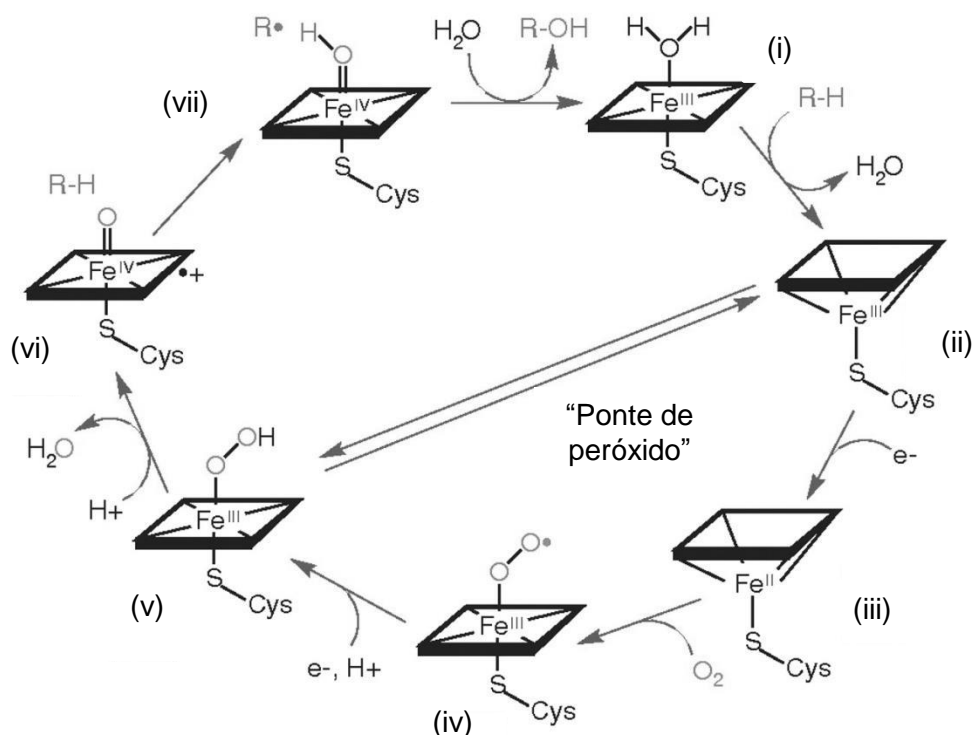


Fig. 1.3 – Ciclo catalítico de ativação do centro ativo do citocromo P450, com indicação da “ponte de peróxido”^[26].

O oxo-complexo (vi) é considerado o oxidante final principal no ciclo catalítico do citocromo P450, apesar das espécies peroxo e hidroperoxido (v) poderem também ser ativas^[28]. Estas espécies são responsáveis pelo elevado número de reações catalisadas pelo citocromo P450, como será indicado na secção seguinte. A reação mais comumente estudada, e a que se encontra representada na figura 1.3, é a hidroxilação de alcanos, em que a espécie oxo abstrai um protão do substrato, promovendo a clivagem homolítica da ligação C-H (vii) e deixando o substrato na forma de radical. Este de imediato reage atacando o átomo de oxigénio e promovendo a descoordenação do mesmo, sendo substituído por uma molécula de água. Desta forma origina-se a espécie catalítica inicial e o ciclo é regenerado.

É de referir que o átomo de enxofre do resíduo de cisteína tem um papel importante neste ciclo catalítico, uma vez que controla a carga do ião metálico, promovendo a transferência do átomo de oxigénio^[22].

O citocromo P450 também pode ativar o peróxido de hidrogénio, neste caso o modo de ação segue o ciclo curto do citocromo P450, também designado por “ponte de peróxido”^[21].

1.3.2 Reações catalisadas pelo citocromo P450

O citocromo P450 participa em inúmeras reações biológicas de biossíntese e de degradação de compostos endógenos como ácidos gordos, esteróides, prostaglandinas e também na degradação de compostos exógenos como poluentes e fármacos^[20]. Desta forma, e tal como está apresentado na figura 1.4, é capaz de catalisar vários tipos de oxidações, nomeadamente hidroxilação de alcanos, epoxidação de alcenos e de compostos aromáticos, oxidação de aminas e tioéteres, desalquilação oxidativa e descarbonilação oxidativa^[29, 30].

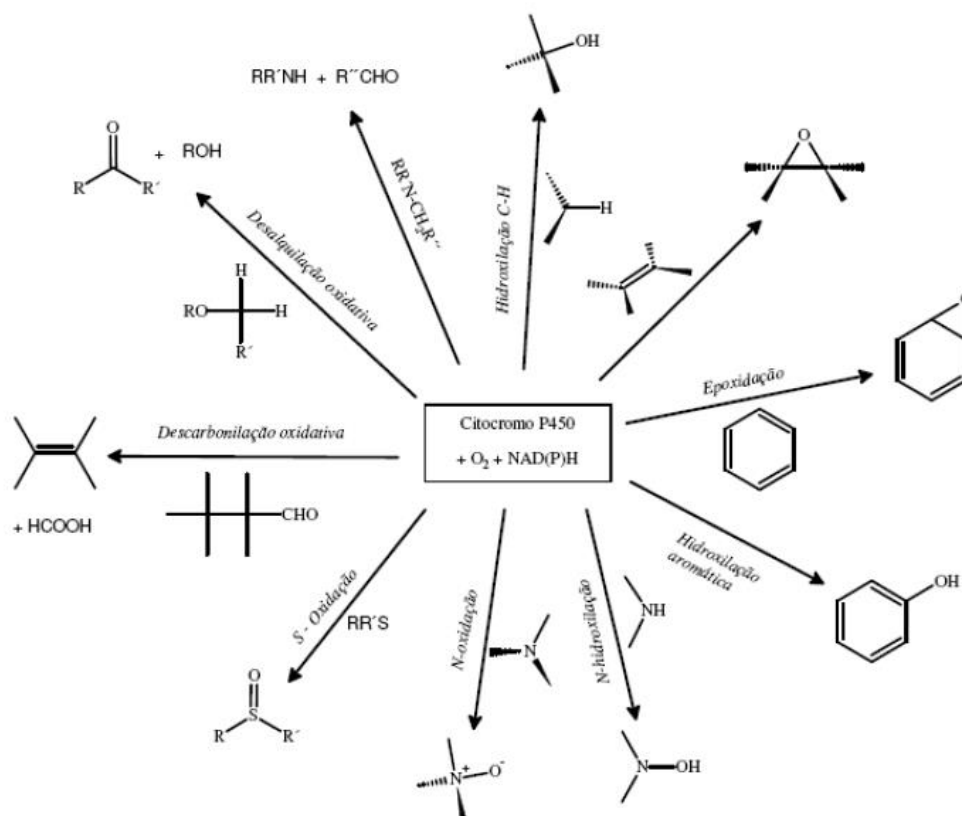


Fig. 1.4 – Esquema de reações de oxidação catalisadas pelo citocromo P450^[31].

Destas reações, destaca-se o facto do citocromo P450 promover eficientemente a epoxidação aromática, uma reação não comumente observada em sistemas

químicos, mas que é considerada responsável pelas propriedades mutagénicas dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos^[23, 32].

Não só com o objetivo de obter novos compostos oxidados por vias de catálise “verde”, mas também com o objetivo de entender os mecanismos em que estes compostos são sintetizados no corpo, vários estudos foram realizados *in vitro* utilizando o citocromo P450^[32-34].

No entanto, a existência de complexos de fácil obtenção, com características e funções semelhantes às do citocromo P450 levou ao desenvolvimento de compostos capazes de mimetizar as oxidações promovidas por esta hemoproteína, empregando-os quer em reações de catálise para síntese de compostos por novas vias, quer em estudos de mecanismos biológicos.

1.4 Metaloporfirinas

1.4.1 Características das porfirinas

As porfirinas são macrociclos tetradentados, constituídas por quatro anéis pirrólicos ligados entre si por pontes metínicas. São anéis aromáticos que apresentam 22 elétrons π deslocalizados, em que apenas 18 destes contribuem para a sua aromaticidade. Na figura 1.5 está representado um núcleo porfirínico onde estão indicadas as posições β -pirrólicas e as posições *meso* correspondentes às quatro pontes metínicas. Quando substituídas, e dependendo da natureza dos grupos substituintes, interferem com a deslocalização eletrónica da porfirina, provocando uma mudança na sua reactividade^[35].

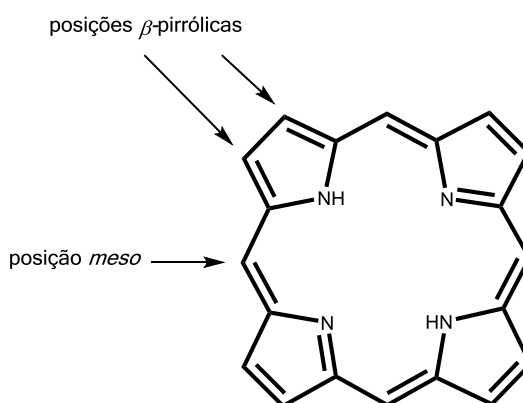


Fig. 1.5 – Representação de um anel porfirínico com indicação das posições *meso* e β -pirrólicas.

Estes compostos caracterizam-se por possuírem uma cor intensa, devido ao extenso sistema π conjugado, podendo-se coordenar (ou não) com diferentes iões metálicos – como zinco, manganês, ferro, magnésio, ruténio, estanho e até mesmo metais lantanídeos^[36-42]. Estes complexos metálicos designam-se metaloporfirinas, em que o ião metálico é coordenado a partir dos 4 átomos de azoto do ciclo porfirínico.

O espectro de absorção de UV/Visível das porfirinas apresenta uma banda de absorção máxima na região de 400-500 nm, denominada por banda Soret. Esta banda é comum a todos os macrociclos porfirínicos pois é proveniente das transições eletrónicas dos 18 eletrões π deslocalizados^[43].

Para além da banda Soret, o espectro de absorção UV/Visível apresenta também quatro bandas entre 500 e 700 nm designadas por bandas Q. Estas bandas de menor intensidade dependem dos substituintes *meso* e β -pirrólicos, da simetria do macrociclo e do ião metálico central.

As porfirinas apresentam aplicações nas mais variadas e distintas áreas, como na medicina, na química supramolecular, na ciência dos materiais ou na eletrónica molecular.

1.4.2 Metaloporfirinas como modelo do citocromo P450

Nos últimos anos, foram realizados vários estudos em que as metaloporfirinas serviram de catalisadores em reações de oxidação biomimética.

Como já foi referido, estes complexos têm mostrado ser bons modelos do citocromo P450. Nomeadamente, as metaloporfirinas de manganês(III), ferro(III) e ruténio(III) mostram ser eficazes na catálise seletiva de reações de hidroxilação e epoxidação de hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos^[44, 45].

1.4.2.1 Mecanismo de ativação do agente oxidante

A catálise por metaloporfirinas tem considerado sobretudo a ativação de dadores de oxigénio mais reduzidos do que oxigénio molecular, como o peróxido de hidrogénio, mimetizando o ciclo curto do citocromo P450^[7].

A metaloporfirina tem o papel de ativar o agente oxidante, formando-se um complexo capaz de oxidar o substrato. Vários estudos foram realizados na identificação do mecanismo associado a esta activação, sendo que um esquema das várias vias possíveis para esta ativação se encontra apresentada na figura 1.6.

Inicialmente o ião metálico da metaloporfirina encontra-se no estado de oxidação +3 e, desta forma, pode coordenar o dador de oxigénio (indicado no esquema da figura como DO). O passo seguinte gera alguma controvérsia, uma vez que há a possibilidade de ocorrer uma clivagem heterolítica da ligação O-O do dador de oxigénio, levando à formação da espécie ativa (A), em que o ião metálico apresenta um número de oxidação +5 (espécie oxo, [porfirinaM(V)=O]). Há também a possibilidade de ocorrer uma clivagem homolítica da mesma ligação, originando a espécie ativa (C), em que o metal se encontra no estado de oxidação +4, levando a reações radiculares. Além do mais, o complexo metaloperóxido (B) pode também ser obtido como oxidante final^[14].

Quando o dador de oxigénio é um hidroperóxido de alquilo tem-se considerado que o mecanismo radicalar é o mais provável; quando o dador de oxigénio é o H₂O₂ a espécie ativa (B) será uma espécie hidroperoxi-metaloporfirina, análoga à espécie no ciclo catalítico do citocromo P450 (figura 1.3)^[46].

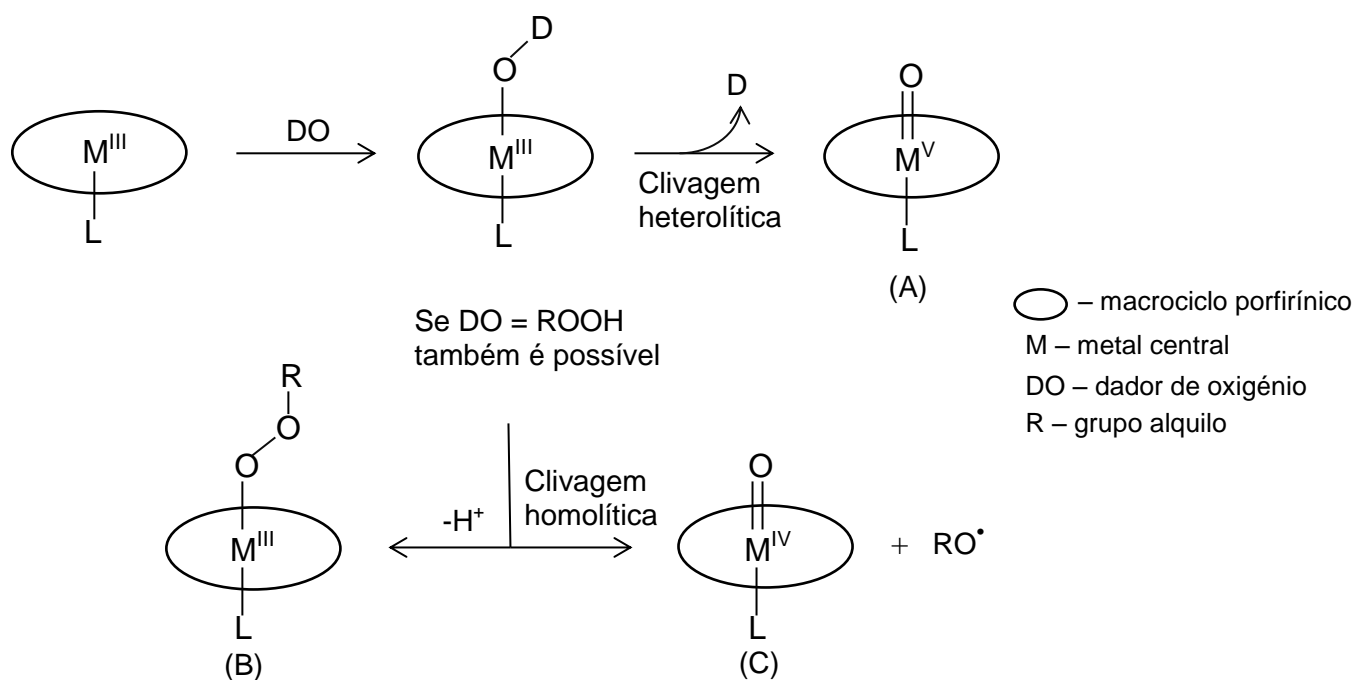


Fig. 1.6 – Esquema do mecanismo de ativação do agente oxidante por uma metaloporfirina^[14].

1.4.2.2 Metaloporfirinas de manganês

Nos últimos anos, as metaloporfirinas de manganês(III) têm vindo a ser cada vez mais utilizadas na oxidação de vários tipos de compostos orgânicos, nomeadamente em reações de hidroxilação e de epoxidação^[47, 48].

Vários estudos provaram que a utilização de acetato de amónio como cocatalisador e agente tamponizante é imprescindível, uma vez que a ausência do mesmo provoca a inativação do complexo catalisador^[49]. Este controla a catálise ácida e básica que contribui para a clivagem heterolítica na formação da espécie ativante, o oxo-complexo de manganês(V).

A metaloporfirina cloro[*meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês(III) [Mn(TDCPP)Cl] (figura 1.7) tem mostrado bons resultados na epoxidação de compostos aromáticos, mesmo em relação a outras metaloporfirinas de manganês, em que o ciclo porfirínico apresenta diferentes substituições nas posições *meso* e β -pirrólicas^[50].

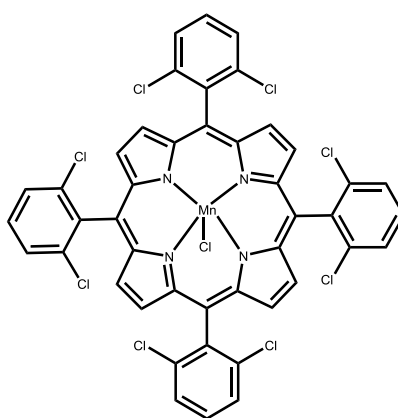


Fig. 1.7 – Estrutura da metaloporfirina [Mn(TDCPP)Cl].

Desta forma, a [Mn(TDCPP)Cl] foi a metaloporfirina utilizada nas reações de oxidação concretizadas neste trabalho, juntamente com o cocatalisador acetato de amónio e o agente oxidante peróxido de hidrogénio.

1.5 Acridina

A acridina é um composto aromático policíclico constituído por três anéis condensados e por um heteroátomo de azoto (figura 1.8). A cor amarela deste composto é devida ao sistema aromático deslocalizado nos três anéis. A sua descoberta foi reportada em 1870 por Graebe e Cairo, que identificaram o composto numa fração de antraceno (o seu análogo homocíclico). O seu nome vem do latim *acris*, que significa forte ou pungente, devido ao seu cheiro acre e à irritação que provoca na pele e em membranas mucosas^[51].

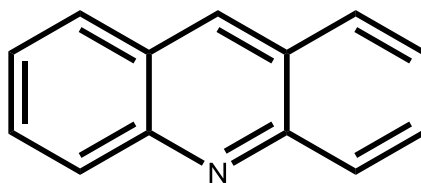


Fig. 1.8 – Estrutura da acridina.

Apesar das variações no sistema de numeração sugeridas por diferentes autores em diferentes épocas (figura 1.9 – a, b e c), o sistema atualmente aceite para esta molécula e adotado neste trabalho está representado na figura 1.9 – d. Esta numeração foi sugerida por Graebe, que se baseou em sistemas semelhantes usados para o antraceno^[51]. Este sistema é também o sistema IUPAC.

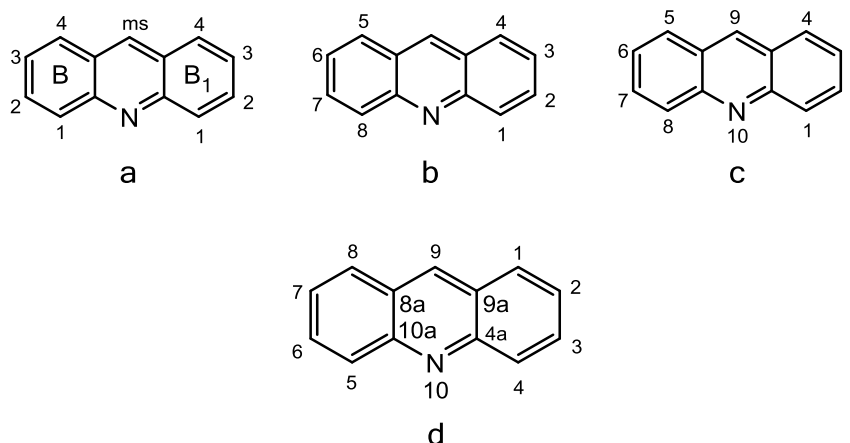


Fig. 1.9 – Representação de diferentes sistemas de numeração da acridina.

A acridina, como análogo heterocíclico de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, possui uma elevada atividade carcinogénica, uma vez que no organismo se formam metabolitos epoxidados ou ionizados, produtos secundários obtidos na oxidação pelas enzimas metabolizadoras. Estes compostos reagem facilmente com a cadeia de ADN, com o ARN ou com proteínas, podendo resultar na formação de tumores^[52].

1.5.1 Aplicações da acridina

Ao longo dos anos, foram desenvolvidos inúmeros derivados da acridina, apresentando várias aplicações em estudos de atividade biológica, em conceção de fármacos, na indústria de corantes ou na fotoquímica, nomeadamente como sensores fluorescentes^[53-55].

1.5.1.1 Aplicações biológicas

Inicialmente pensava-se que a acridina apenas teria atividade carcinogénica. No entanto, em meados dos anos 60, este composto chamou a atenção devido à atividade dos seus derivados na prevenção do crescimento de células tumorais, mostrando ser possível a utilização destas moléculas em terapias anticancerígenas. Isto estimulou a síntese de novos compostos derivados da acridina, em busca de fármacos anticancerígenos^[56-60].

Os derivados da acridina apresentam uma estrutura base planar e ligam-se fortemente, mas reversivelmente, ao ADN^[61]. O modo de ligação envolve a intercalação da molécula entre pares de bases azotadas (figura 1.10), que vai interferir com a função do ADN, ao bloquear a síntese contínua de ARN e ADN, impedindo a síntese de proteínas. Essencialmente, estas ligações baseiam-se em forças de van der Waals, suplementadas por ligações iónicas devido aos iões fosfato do ADN^[62].

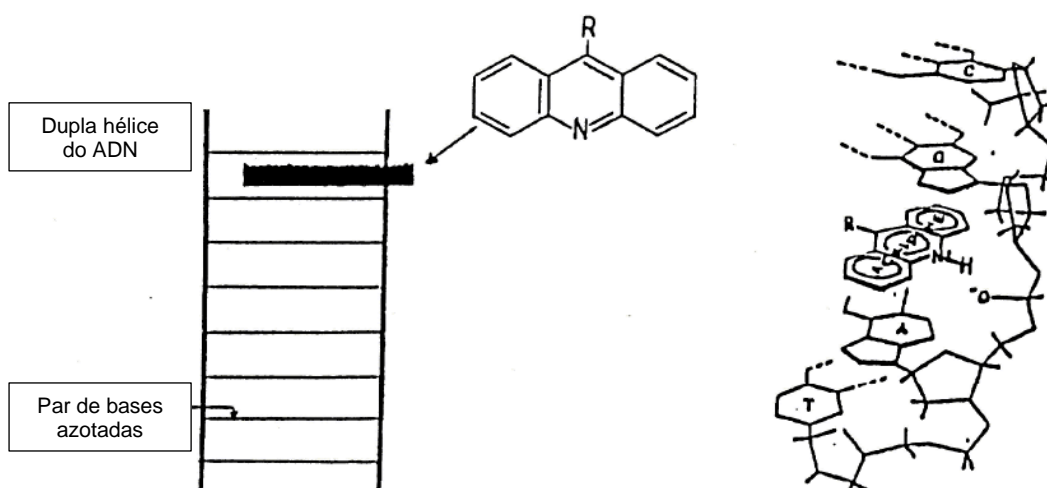


Fig. 1.10 – Esquema da intercalação de moléculas derivadas da acridina no ADN^[63].

O entendimento do modo de ação destes derivados e a existência de diferentes alvos biológicos incentivaram a crescente investigação na síntese de novos derivados acridínicos. Na figura 1.11 estão representados alguns derivados da acridina com alvos biológicos distintos^[64].

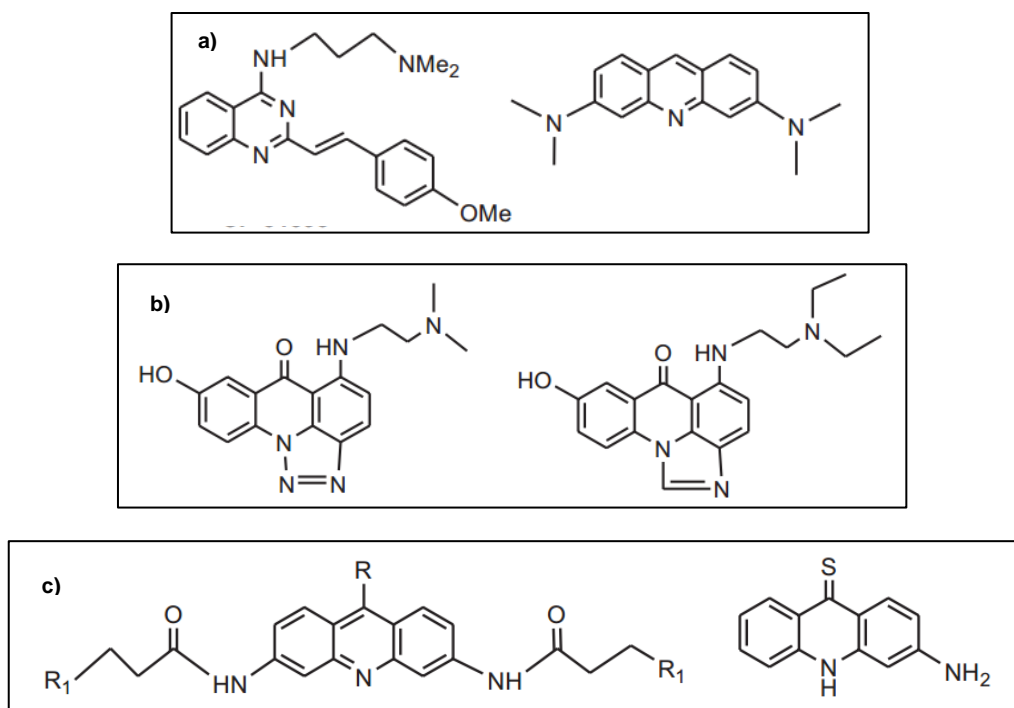


Fig. 1.11 – Derivados da acridina: a) com atividade anticancerígena; b) com propriedades de ligação ao ADN; c) com propriedades inibidoras da topoisomerase^[64].

Para além da atividade anticancerígena, vários derivados da acridina apresentam também características antibacterianas^[65], como a proflavina ou a acriflavina^[66] (figura 1.12 d), e também antimaláricas, como a quinacrina^[67] (figura 1.12 e).

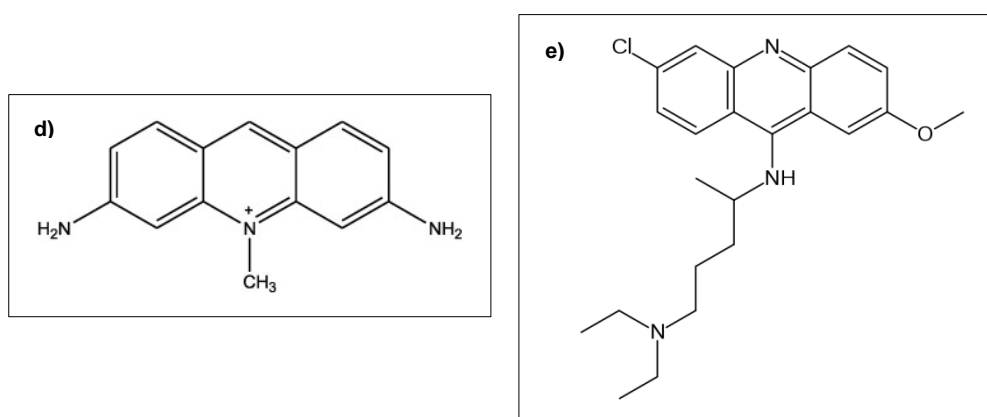


Fig. 1.12 – Estrutura da acriflavina (d) e da quinacrina (e)^[66, 67].

1.5.1.2 Aplicações fotoquímicas

Os derivados da acridina são extensivamente utilizados em sondas luminescentes, essencialmente quimiluminescentes e fluorescentes^[68-72].

A quimiluminescência resume-se a uma reação química que emite luz. Para este feito, é necessário que a energia libertada pela reação provoque a transição de um eletrão do seu estado fundamental para um estado excitado, ocorrendo essencialmente quando há electrões π envolvidos^[73]. Os derivados da acridina têm mostrado ser bons sensores quimiluminescentes, evidenciando excelente seletividade essencialmente na quantificação de ácidos nucleicos^[74].

Por outro lado, as sondas fluorescentes baseiam-se na variação da intensidade e/ou comprimento de onda da radiação luminescente emitida pela molécula usada como sonda. Esta característica é empregada na quantificação analítica de vários tipos de elementos e moléculas químicas, como iões ou moléculas orgânicas. O objetivo é encontrar sensores químicos que mostrem boa seletividade, sensibilidade e curto tempo de atuação^[75]. Os derivados da acridina têm vindo a mostrar ser bons sensores na quantificação de várias espécies químicas, como iões de magnésio ou cobre, ou molécula orgânicas como a cafeína^[75-77].

1.5.2 Síntese de derivados da acridina

Apesar do elevado número de derivados da acridina existentes, poucos destes são obtidos pela substituição direta na molécula de acridina, já que apenas a posição 9 da molécula mostra uma reatividade adequada para a sua fácil funcionalização^[51]. Essencialmente, estes derivados são obtidos a partir de reações de adição e ciclização de compostos de menor massa molecular. Estas reações apresentam vários aspectos negativos como a necessidade de vários passos de reação ou a utilização de elevadas temperaturas. Alguns exemplos estão representados na figura 1.13, em que se observa a variedade de compostos de partida como aminas aromáticas, fenóis, aldeídos ou benzenos halogenados^[51].

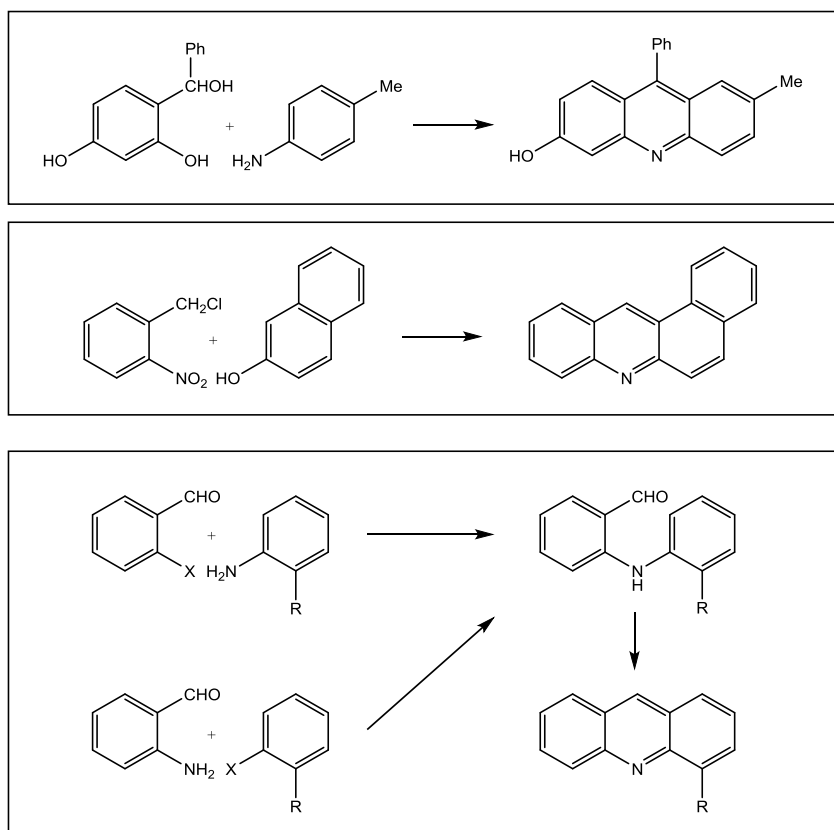


Fig. 1.13 – Exemplos de sínteses de derivados da acridina^[51].

Compreendendo a necessidade de desenvolvimento de novas vias de síntese, mais económicas e mais ecológicas, para obtenção de compostos derivados da acridina (novos ou já existentes) aplicou-se o sistema de catálise biomimética oxidativa baseado na $[\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}]$, descrito na secção 1.4.2, na oxidação da acridina obtendo-se novos compostos que podem ter aplicação direta ou ser posteriormente funcionalizados.

Desta forma, foram sintetizados essencialmente epóxidos ou derivados hidroxilados nas posições periféricas, que podem sofrer reações de abertura de anel de epóxido com vários nucleófilos ou podem ainda ser oxidados ou rearranjados^[78, 79]. Estes estudos poderão incentivar a utilização da acridina como substrato na obtenção de novos compostos acridínicos com substituintes nas suas posições periféricas. Estes compostos poderão ainda ser aplicados no estudo do mecanismo de interação dos metabolitos derivados de compostos aromáticos policíclicos com a cadeia de ADN.

Capítulo II

Execução Experimental

Capítulo II – Execução Experimental

Neste capítulo são apresentados os procedimentos seguidos na síntese da metaloporfirina e na oxidação da acridina. Também se encontram aqui descritos os reagentes e solventes utilizados, a instrumentação usada na caracterização dos produtos e o *software* utilizado para realização dos cálculos teóricos.

2.1 Reagentes e solventes

Todos os reagentes e solventes utilizados durante a execução experimental deste trabalho foram utilizados sem purificação adicional.

Na síntese da porfirina utilizou-se pirrol 98% adquirido à Aldrich e 2,6-diclorobenzaldeído $\geq 98\%$ adquirido à Fluka. Os solventes utilizados foram ácido acético glacial *p.a.*, nitrobenzeno para síntese e éter de petróleo *p.a.*, adquiridos à Merck e ainda metanol *p.a.* adquirido à Panreac e diclorometano *p.a.* adquirido à Sigma-Aldrich. Na reação de complexação da porfirina, usou-se o cloreto de manganês(II) tetra-hidratado *p.a.* e a piridina *p.a.*, ambos adquiridos à Merck. O solvente utilizado foi *N,N*-dimetilformamida (DMF) *p.a.*, adquirido à Merck, e clorofórmio *p.a.* adquirido à Carlo Erba. Usou-se a acridina 97% e peróxido de hidrogénio (solução aquosa) 30% m/m, adquiridos à Sigma-Aldrich. Foi também utilizado peróxido de hidrogénio na forma de aducto de ureia 98%, da Aldrich. O acetato de amónio, *p.a.* foi adquirido à Merck e o solvente utilizado foi o acetonitrilo *p.a.*, adquirido à Fisher Scientific.

Na reação de abertura do epóxido, foi utilizada a 4-etilanilina 98%, da Aldrich e o acetonitrilo descrito anteriormente como solvente.

No controle das reações por cromatografia de camada fina (TLC) foram usadas folhas plásticas revestidas por sílica gel 60 F₂₅₄ da Merck. Para a separação dos produtos por TLC preparativa foram utilizadas placas de vidro revestidas por uma camada de sílica gel 60 GF₂₅₄ da Merck. Como eluentes foram usados o clorofórmio e metanol, já referidos, e ainda acetato de etilo *p.a.* adquirido à Merck.

2.2 Instrumentação

Para o traçado dos espectros de UV/Visível, utilizou-se o espectrofotómetro Varian Cary 50 BIO, no intervalo de 300 a 700 nm, e células de quartzo com passo ótico de 1 cm. Os espectros de RMN unidimensionais e bidimensionais foram obtidos num aparelho Bruker DRX, a frequências de 100,63 e 400,15 MHz para os espectros de ^{13}C e de ^1H , respetivamente. O solvente utilizado foi o clorofórmio deuterado 99,80% D, adquirido à Euriso-top. Os desvios químicos são apresentados em partes por milhão (δ , ppm) relativos ao CHCl_3 residual ($\delta = 7,260$ ppm) no espectro de ^1H ou relativos ao pico central do CDCl_3 residual ($\delta = 77,16$ ppm) nos espectros de ^{13}C .

Os espectros de massa foram obtidos na Unidade de Análise Elemental da Universidade de Santiago de Compostela, Espanha, com ionização por impacto eletrónico (EI) com uma energia de ionização de 70 eV.

Na síntese assistida por micro-ondas, utilizou-se o equipamento CEM Discover.

2.3 Cálculos teóricos

Os cálculos teóricos foram realizados utilizando o método da teoria do funcional da densidade (DFT) usando o funcional B3LYP. Para criar as estruturas das moléculas foi utilizado o GaussView 5.0 e os cálculos foram concretizados pelo *software* Gaussian 09.

2.4 Síntese

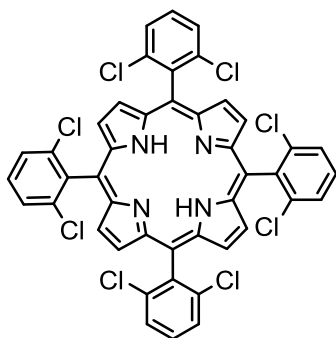
2.4.1 Síntese da *meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina

Uma mistura de ácido acético (210 mL) e nitrobenzeno (150 mL) foi aquecida até à temperatura de refluxo, à qual se adicionou 2,6-diclorobenzaldeído (28,8 mmol). Quando se verificou a dissolução total do aldeído adicionou-se à solução, gota a gota, pirrol (2,00 mL, 28,8 mmol) e deixou-se em refluxo, sob agitação e ao abrigo da luz, durante 45 minutos.

A mistura reacional foi arrefecida até cerca de 60 °C, adicionou-se 200 mL de metanol e deixou-se em repouso durante três dias, ao abrigo da luz. Os cristais roxos da porfirina foram recuperados por filtração através de uma membrana de poliamida

de 0,2 μm , lavados com metanol e o filtrado foi cuidadosamente acondicionado para se efetuar a sua destruição.

Posteriormente dissolveu-se o precipitado obtido em diclorometano, e concentrou-se a solução. Finalmente, a porfirina foi cristalizada em diclorometano/éter de petróleo, lavada com éter de petróleo, filtrada por um funil de prego e seca sob vácuo.



Meso-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirina (H_2TDCPP)

RMN de ^1H δ (ppm): -2,53 (2H, s, NH); 7,67-7,72 (4H, m, H-*p*); 7,77-7,81 (8H, m, H-*m*); 8,66 (8H, s, H- β).

UV/Visível (CH_2Cl_2) $\lambda_{\text{máx}}$, nm (%): 417 (100); 512 (7); 588 (2); 657 (0,8).

2.4.2 Síntese da cloro[meso-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês(III)

Num balão de fundo redondo dissolveu-se a H_2TDCPP (200 mg) em 20 mL de *N,N*-dimetilformamida (DMF), e a esta mistura adicionou-se 2 mL de piridina. A mistura foi colocada sob refluxo protegida da luz, sob agitação, e a esta foi adicionado o cloreto de manganês(II) (10 equivalentes molares relativamente ao substrato). A reação foi controlada por espectrofotometria de UV/Visível, observando-se a deslocação batocrômica da banda Soret de 418 nm, da porfirina livre, para cerca de 480 nm, do complexo de manganês (figura 2.1). Foi necessário adicionar mais cloreto de manganês até a banda da porfirina livre desaparecer, obtendo-se a complexação total da porfirina.

No fim da reação, a DMF foi evaporada no evaporador rotativo e o resíduo obtido foi dissolvido em clorofórmio. A fase orgânica foi lavada diversas vezes com água, extraída com diclorometano e seca fazendo passar a solução através de um funil com sulfato de sódio anidro. O solvente foi evaporado até à secura e o resíduo foi cristalizado numa mistura de diclorometano e éter de petróleo, depois filtrado por um funil de prego e lavado com *n*-hexano.

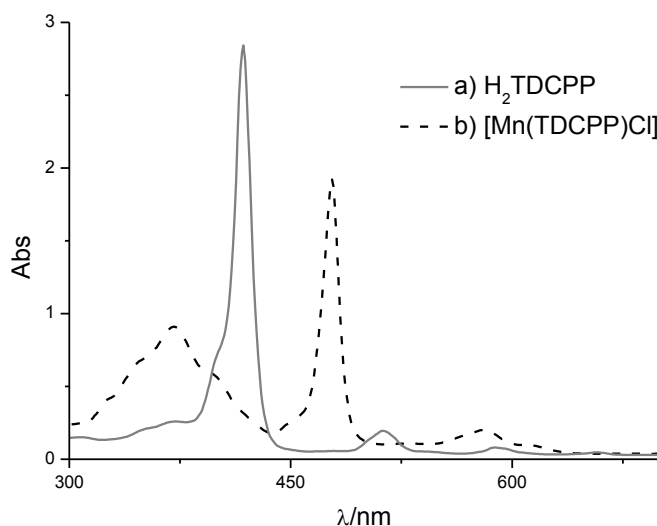
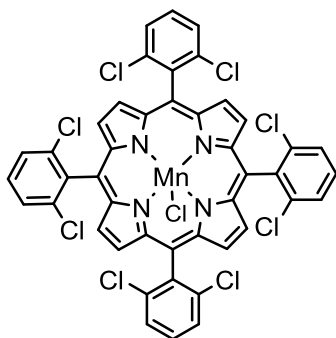


Fig. 2.1 – Espectros de UV/Visível da a) H_2TDCPP e da b) $[Mn(TDCPP)Cl]$.



Cloro[*meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]

manganês(III) $[Mn(TDCPP)Cl]$

UV/Visível (CH_2Cl_2) $\lambda_{m\acute{a}x}$, nm (%): 371 (37); 478 (100); 580 (7); 615 (2).

2.4.3 Oxidação da acridina

Procedimento base:

Num balão de 25 mL, dissolveu-se a acridina (0,3 mmol) em acetonitrilo (4 mL), a esta solução adicionou-se 1,0 mg de $[Mn(TDCPP)Cl]$ e 30 mg de acetato de amónio. A razão substrato/catalisador foi de 300. Sob agitação, foram adicionadas, em cada 15 minutos, alíquotas de peróxido de hidrogénio de 0,5 equivalentes molares, relativamente ao substrato. As reações foram controladas por TLC utilizando uma solução de 10% de metanol em clorofórmio como eluente.

Esta reação foi reproduzida com diferentes tempos de reação e diferentes quantidades de oxidante usado, segundo as condições I a III descritas seguidamente.

A percentagem de conversão e os rendimentos isolados foram calculados a partir do número de moles, e a conversão foi baseada na quantidade de substrato recuperado após a reação.

Condição I

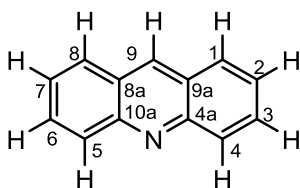
Adicionou-se peróxido de hidrogénio (solução aquosa) a 30% m/m, diluído em acetonitrilo (2:8), durante 1 hora, perfazendo um total de 2 equivalentes adicionados (0,3 mL). Para isolar os produtos foi necessário recorrer a uma separação utilizando como eluente uma solução de 50% de acetato de etilo em clorofórmio. A conversão do substrato foi de 71%, o composto 1:2-epoxiacridina (**2**) foi obtido com um rendimento de 8%, o composto 4-hidroxiacridina (**3**) foi obtido com um rendimento de 5%, o composto *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**) foi obtido com um rendimento de 20% e o composto *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**) foi obtido com um rendimento de 5%.

Condição II

Adicionou-se peróxido de hidrogénio na forma de aducto de ureia, durante 3 horas, perfazendo um total de 6 equivalentes adicionados (170 mg). Para isolar os produtos foi necessário recorrer a uma primeira separação utilizando como eluente uma mistura de 5% de metanol em clorofórmio. Posteriormente realizaram-se outras duas separações utilizando uma mistura de 1% de metanol em clorofórmio. A conversão do substrato foi de 94%, o composto **4** foi obtido com um rendimento de 25%, o composto **5** foi obtido com um rendimento de 6%, o composto 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**6**) foi obtido com um rendimento de 2% e o composto 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**7**) foi obtido com um rendimento de 3%.

Condição III

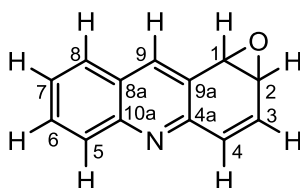
Adicionou-se peróxido de hidrogénio na forma de aducto de ureia, durante 15 horas e 30 minutos, perfazendo um total de 31 equivalentes adicionados (875 mg). Nestas condições, foi necessário adicionar mais duas vezes a mesma quantidade de catalisador, perfazendo uma razão substrato/catalisador de 100. Para isolar os produtos foi necessário recorrer a uma série de separações em que foram utilizados diferentes eluentes: uma mistura de 5% de metanol em clorofórmio, uma de 25% de acetato de etilo em clorofórmio e ainda uma solução de 50% de acetato de etilo em clorofórmio. A conversão do substrato foi de 100%, o composto **4** foi obtido com um rendimento de 26%, o composto **5** com um rendimento de 6%, o composto **6** com um rendimento de 4%, o composto **7** foi obtido com um rendimento de 6%, o composto *anti,anti*-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina **8a** com um rendimento de 8% e ainda o composto *anti,anti*-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina **8b** com um rendimento de 3%.



Acridina (1)

RMN de ^1H δ (ppm): 7,54 (2H, ddd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-2, H-7); 7,79 (2H, ddd, $^3J = 8,8$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-3, H-6); 8,00 (2H, dd, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-1, H-8); 8,25 (2H, dd, $^3J = 8,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-4, H-5); 8,77 (1H, s, H-9).

RMN de ^{13}C δ (ppm): 125,9 (C-2, C-7); 126,7 (C-8a, C-9a); 128,4 (C-1, C-8); 129,4 (C-3, C-6); 130,5 (C-4, C-5); 136,3 (C-9); 149,1 (C-4a, C-10a).

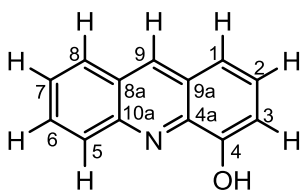


1:2-epoxiacridina (2)

RMN de ^1H δ (ppm): 4,15 (1H, dt, $^3J = 3,6$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-2); 4,62 (1H, d, $^3J = 3,6$ Hz, H-1); 6,85 (1H, dd, $^3J = 10,0$ Hz, $^3J = 3,6$ Hz, H-3); 7,01 (1H, dd, $^3J = 10,0$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-4); 7,56 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-7); 7,74 (1H, ddd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-6); 7,85 (1H, dd, $^3J = 8,0$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-8); 8,09 (1H, dd, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-5); 8,36 (1H, s, H-9).

RMN de ^{13}C δ (ppm): 52,2 (C-2); 56,4 (C-1); 125,9 (C-9a); 127,2 (C-7); 127,2 (C-8a); 127,5 (C-8); 129,5 (C-5); 130,4 (C-6); 131,6 (C-3); 134,2 (C-4); 137,7 (C-9); 148,3 (C-10a); 151,3 (C-4a).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 195 (M^+ , 92); 179 (44); 167 (100); 140 (27).

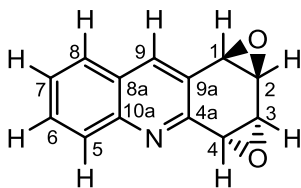


4-hidroxiacridina (3)

RMN de ^1H δ (ppm): 7,20 (1H, dd, $^3J = 7,2$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-3); 7,46 (1H, dd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 7,2$ Hz, H-2); 7,53 (1H, dd, $^3J = 8,4$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-1); 7,56 (1H, ddd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 6,4$ Hz, $^4J = 0,8$ Hz, H-7); 7,79 (1H, ddd, $^3J = 8,8$ Hz, $^3J = 6,4$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-6); 8,03 (1H, d, $^3J = 8,4$ Hz, H-8); 8,22 (1H, d, $^3J = 8,8$ Hz, H-5); 8,77 (1H, s, H-9).

RMN de ^{13}C δ (ppm): 108,5 (C-3); 118,3 (C-1); 126,1 (C-7); 126,8 (C-9a); 127,0 (C-2); 127,5 (C-8a); 128,4 (C-8); 129,2 (C-5); 130,4 (C-6); 136,2 (C-9); 140,4 (C-4a); 147,1 (C-10a); 151,9 (C-4).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 195 (M^+ , 81); 167 (100); 140 (20).

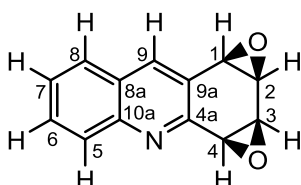


Anti-1:2,3:4-diepoxiacridina (4)

RMN de ^1H δ (ppm): 3,95 (1H, dd, $^3J = 4,0$ Hz, $^4J = 0,8$ Hz, H-1); 4,10 (1H, d, $^3J = 4,0$ Hz, H-4); 4,12 (1H, m, H-2); 4,16 (1H, m, H-3); 7,59 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-7); 7,76 (1H, ddd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-6); 7,82 (1H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H-8); 8,10 (1H, d, $^3J = 8,4$ Hz, H-5); 8,20 (1H, s, H-9).

RMN de ^{13}C δ (ppm): 51,7 (C-1); 54,1 (C-4); 54,9 (C-2); 55,9 (C-3); 124,7 (C-9a); 127,5 (C-8a); 127,6 (C-8); 127,9 (C-7); 129,4 (C-5); 130,7 (C-6); 139,2 (C-9); 147,9 (C-10a); 152,1 (C-4a).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 211 (M^+ , 93); 182 (100); 154 (82); 129 (62).

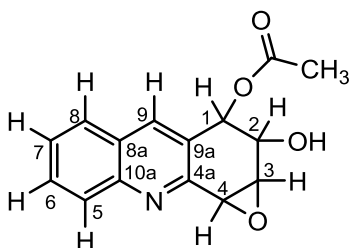


Syn-1:2,3:4-diepoxiacridina (5)

RMN de ^1H δ (ppm): 4,01 (1H, t, $^3J = 3,2$ Hz, H-2); 4,03 (1H, t, $^3J = 3,2$ Hz, H-3); 4,21 (1H, d, $^3J = 3,2$ Hz, H-1); 4,29 (1H, d, $^3J = 3,2$ Hz, H-4); 7,62 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-7); 7,79 (1H, ddd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-6); 7,87 (1H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H-8); 8,15 (1H, d, $^3J = 8,4$ Hz, H-5); 8,41 (1H, s, H-9).

RMN de ^{13}C δ (ppm): 48,1 (C-2); 48,6 (C-3); 52,4 (C-1); 52,5 (C-4); 125,0 (C-9a); 127,6 (C-8); 127,8 (C-7); 127,9 (C-8a); 129,4 (C-5); 130,8 (C-6); 139,4 (C-9); 148,0 (C-10a); 152,4 (C-4a).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 211 (M^+ , 54); 182 (100); 154 (62); 129 (55).

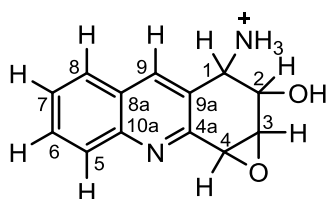


1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6)

RMN de ^1H δ (ppm): 2,07 (3H, s, $-\text{CH}_3$); 3,99 (1H, m, H-3); 4,34 (1H, d, $^3J = 4,0$ Hz, H-4); 4,65 (1H, m, H-2); 6,10 (1H, m, H-1); 7,54 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-7); 7,72 (1H, ddd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-6); 7,72 (1H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H-8); 8,06 (1H, d, $^3J = 8,4$ Hz, H-5); 8,18 (1H, s, H-9).

RMN de ^{13}C δ (ppm): 21,4 ($-\text{CH}_3$); 53,4 (C-4); 56,6 (C-3); 66,4 (C-2); 72,3 (C-1); 123,8 (C-9a); 127,4 (C-7); 128,1 (C-8a); 128,2 (C-8); 128,8 (C-5); 130,8 (C-6); 141,1 (C-9); 147,8 (C-10a); 153,3 (C-4a); 170,8 ($-\text{CO}-$).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 271 (M^+ , 6); 228 (14); 212 (59); 211 (100); 200 (60); 182 (81); 170 (37); 154 (54); 140 (27); 128 (44).

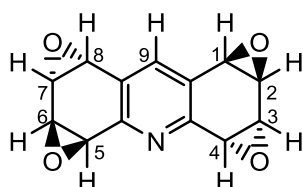


1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7)

RMN de ^1H δ (ppm): 4,10 (1H, dt, $^3J = 4,0$ Hz, $^3J = 2,4$ Hz, $^4J = 2,4$ Hz, H-3); 4,47 (1H, d, $^3J = 4,0$ Hz, H-4); 4,75 (2H, m, H-1, H-2); 7,57 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-7); 7,76 (1H, ddd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-6); 7,79 (1H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H-8); 8,10 (1H, d, $^3J = 8,4$ Hz, H-5); 8,14 (1H, s, H-9)

RMN de ^{13}C δ (ppm): 55,1 (C-4); 57,7 (C-3); 67,0 (C-2); 72,6 (C-1); 127,6 (C-7); 128,0 (C-8); 128,4 (C-8a); 128,5 (C-9a); 128,9 (C-5); 130,6 (C-6); 139,6 (C-9); 147,7 (C-10a); 152,5 (C-5a).

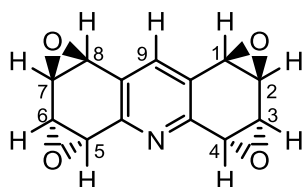
EM (EI) m/z (abundância relativa %): 229 (M^+ , 5); 212 (25); 200 (66); 182 (33); 156 (26).



anti,anti-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina (8a)

RMN de ^1H δ (ppm): 3,71 (2H, dd, $^3J = 4,0$ Hz, $^4J = 0,4$ Hz, H-1, H-8); 3,89 (2H, d, $^3J = 4,0$ Hz, H-4, H-5); 4,04 (2H, m, H-2, H-7); 4,07 (2H, m, H-3, H-6); 7,76 (1H, s, H-9).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 243 (M^+ , 19); 214 (48); 186 (28); 158 (17); 130 (12).



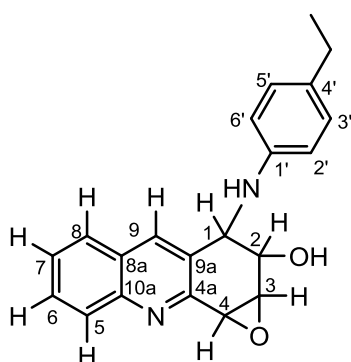
anti,anti-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina (8b)

RMN de ^1H δ (ppm): 3,72 (2H, dd, $^3J = 3,6$ Hz, $^4J = 0,4$ Hz, H-1, H-8); 3,90 (2H, d, $^3J = 4,0$ Hz, H-4, H-5); 4,04 (2H, m, H-2, H-7); 4,07 (2H, m, H-3, H-6); 7,75 (1H, s, H-9).

EM (EI) m/z (abundância relativa %): 243 (M^+ , 19); 214 (48); 186 (28); 158 (17); 130 (12).

2.4.4 Reação da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina com a 4-etilanilina em micro-ondas

Uma mistura de *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**) (0,15 mmol) e 4-etilanilina (0,15 mmol) em acetonitrilo (6 mL) foi colocada num vaso de 10mL, que posteriormente foi selado e colocado na cavidade de um reator de micro-ondas. A reação foi irradiada a 80 °C, durante 10 minutos (1 minuto de rampa de aquecimento até à temperatura desejada) usando 150 W de potência máxima. Após a reação, o solvente foi evaporado e a mistura reacional foi dissolvida em clorofórmio deuterado para caracterização por RMN.



1-(4'-etilfenilamino)-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**9**)

RMN de ^1H δ (ppm): 1,18 (3H, t, $^3J = 7,6$ Hz, $-\text{CH}_3$); 2,54 (2H, q, $^3J = 7,6$ Hz, $-\text{CH}_2-$); 3,31 (1H, s largo, NH); 4,00 (1H, m, H-3); 4,33 (1H, d, $^3J = 4,0$ Hz, H-4); 4,72 (1H, m, H-2); 4,81 (1H, m, H-1); 6,64 (2H, m, H-3', H-5'); 7,00 (2H, m, H-2', H-6'); 7,41 (1H, ddd, $^3J = 8,0$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,2$ Hz, H-7); 7,50 (1H, d, $^3J = 8,0$ Hz, H-8); 7,63 (1H, ddd, $^3J = 8,4$ Hz, $^3J = 6,8$ Hz, $^4J = 1,6$ Hz, H-6); 7,82 (1H, s, H-9); 7,95 (1H, d, $^3J = 8,4$ Hz, H-5).

RMN de ^{13}C δ (ppm): 16,0 ($-\text{CH}_3$); 28,0 ($-\text{CH}_2-$); 54,4 (C-4); 57,8 (C-1); 58,1 (C-3); 66,1 (C-2); 114,6 (C-2', C-6'); 127,0 (C-7); 127,9 (C-9a); 127,9 (C-8); 128,2 (C-8a); 128,4 (C-5); 128,9 (C-3', C-5'); 129,9 (C-6); 134,5 (C-4'); 138,4 (C-9); 144,0 (C-1'); 147,1 (C-10a); 152,7 (C-4a).

Capítulo III

Novos Derivados da Acridina

Capítulo III – Novos Derivados da Acridina

Neste trabalho, a acridina foi oxidada em condições biomiméticas para a obtenção de novos derivados, que poderão ser precursores de compostos com potenciais características biológicas ou fotoquímicas.

Nas diversas reações realizadas à temperatura ambiente, o peróxido de hidrogénio foi utilizado como oxidante “verde”, o acetonitrilo como solvente, a metaloporfirina cloro[*meso*-tetraquis(2,6-diclorofenil)porfirinato]manganês(III) [Mn(TDCPP)Cl] como catalisador e o acetato de amónio como cocatalisador. Nestas condições foram obtidos diversos produtos como ilustrado na figura 3.1.

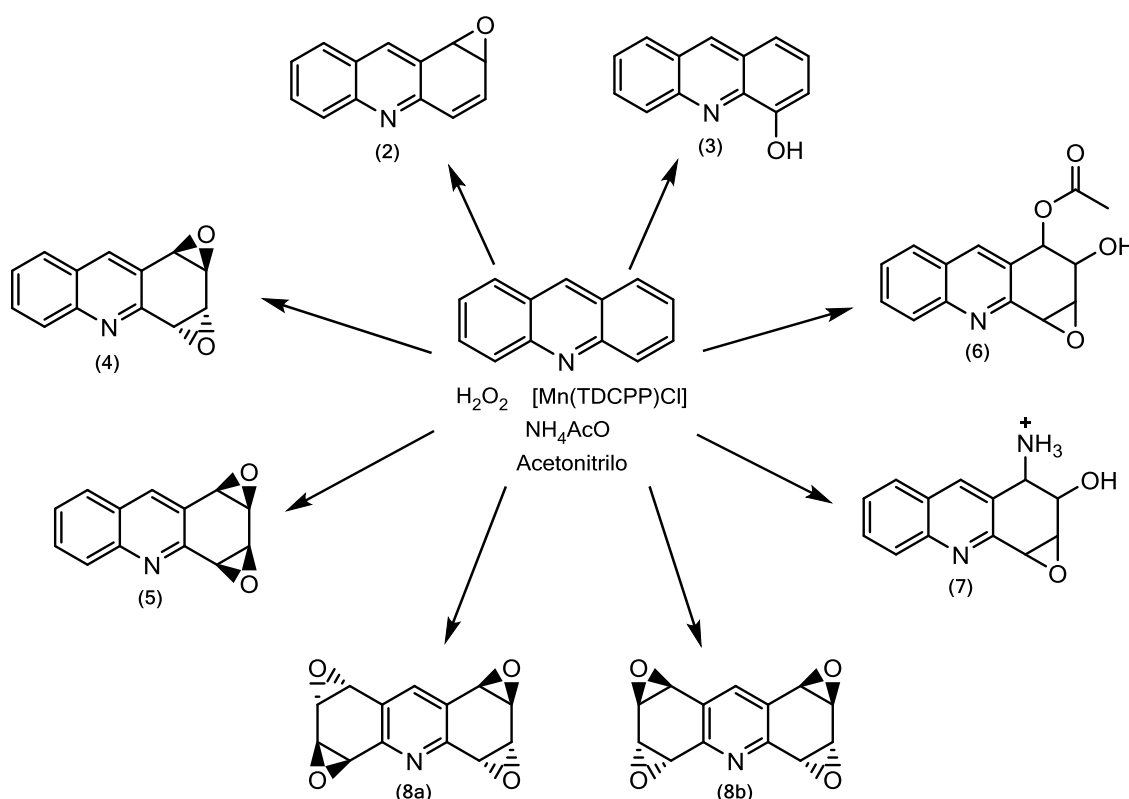


Fig. 3.1 – Reação de oxidação da acridina (1) e produtos obtidos.

A oxidação da acridina (1) foi realizada em três condições reacionais diferentes e os produtos foram isolados após separação por cromatografia em camada fina. Neste capítulo descrevem-se os resultados obtidos, assim como todo o processo de identificação e caracterização das novas moléculas isoladas. É ainda descrita a reação de um diepóxido de acridina com 4-etilanilina como reação modelo para posteriores funcionalizações.

3.1 Oxidação da acridina (1)

As oxidações da acridina (1) realizaram-se da forma descrita na parte experimental, utilizando as condições I, II e III, apresentadas na tabela 3.1, em que se variou o tempo de reação, a quantidade de oxidante utilizado e a razão substrato/catalisador. Dependendo destas condições obtiveram-se diferentes rendimentos para os produtos isolados. Para os tempos de reação mais longos obtiveram-se novos produtos resultantes da reatividade dos produtos formados inicialmente.

Tabela 3.1 – Condições utilizadas na oxidação da acridina (1).

Condições de reação	I	II	III
Tempo (horas)	1	3	15,5
H ₂ O ₂ adicionado (eq.)*	2	6	31
Razão substrato/catalisador	300	300	100

*Equivalentes molares relativamente ao substrato

Para isolar estes produtos foi necessário recorrer a várias separações sucessivas, em que se alterou o eluente para um melhor isolamento dos compostos. Estas separações, para as reações realizadas nas condições I (1h00) e II (3h00) estão esquematizadas nas figuras 3.2 e 3.3, respetivamente. Nestes esquemas estão indicados os eluentes utilizados bem como os produtos isolados.

Na figura 3.2 está representada a separação da mistura reaccional obtida pela oxidação da acridina (1) durante a condição I. Foi possível isolar os seguintes compostos: 1:2-epoxiacridina (2), 4-hidroxiacridina (3), *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4) e *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (5).

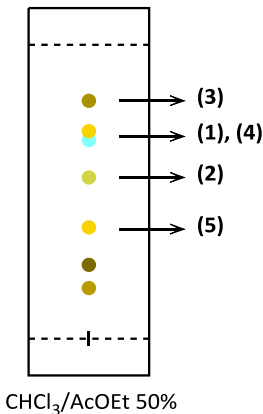


Fig. 3.2 – Apresentação da separação cromatográfica da mistura reaccional da oxidação da acridina (1) na condição I.

A separação da mistura final obtida pela reação na condição II está representada na figura 3.3. Após a primeira separação, as frações (A) e (B) foram novamente separadas, utilizando um eluente com menor concentração em metanol (1% em clorofórmio).

No final foi possível isolar os seguintes compostos: *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**), *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**), 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**6**) e a 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**7**).

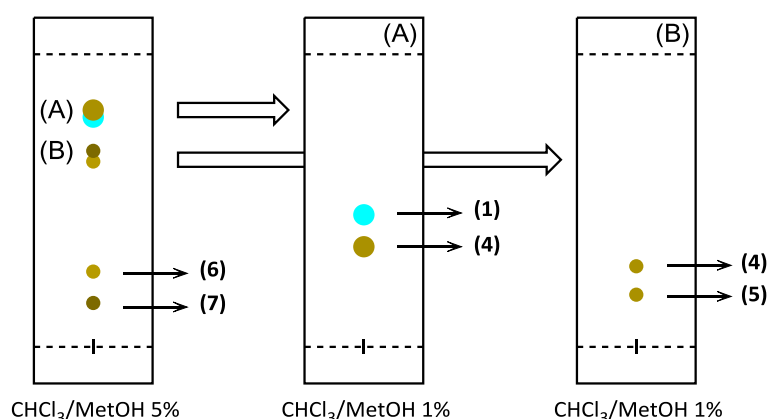


Fig. 3.3 – Apresentação das separações cromatográficas da mistura reacional da oxidação da acridina (1) na condição II.

A oxidação da acridina utilizando a condição III levou à formação de 6 produtos. Após uma primeira separação, com o eluente $\text{CHCl}_3/\text{MetOH}$ 5%, foram recolhidas três frações (C-E) que foram posteriormente separadas, sendo isolados os compostos **6** e **7**. À semelhança do que se encontra representado na figura 3.3 usou-se o eluente $\text{CHCl}_3/\text{MetOH}$ 1%, para separar as frações (C) e (D) e obter os compostos isolados **1**, **4** e **5**. A fração (E) foi fracionada usando como eluente $\text{CHCl}_3/\text{AcOEt}$ 25%, tendo-se isolado os compostos **8a** e **8b**.

Na tabela 3.2 estão indicadas as conversões do substrato e os rendimentos isolados dos produtos obtidos nas três condições de reação utilizadas. A percentagem de conversão foi de 71% ao fim de 1h de reação (condição I) e aumentou para 94% ao fim de 3h de reação (condição II). Ao fim de 15,5 h (condição III) observou-se 100% de conversão. A lenta progressão do consumo do substrato nas últimas horas de reação, observada através do controlo das reações por TLC, pode ser explicada pela formação de novos produtos a partir dos compostos iniciais.

Tabela 3.2 – Conversão do substrato e rendimento dos produtos obtidos nas condições I, II e III.

Condições de reação		I	II	III
Conversão ^a		71%	94 %	100 %
Rendimento dos produtos ^b	(2)	8 %	--	--
	(3)	5 %	--	--
	(4)	20 %	25 %	26 %
	(5)	5 %	6 %	6 %
	(6)	--	2 %	4 %
	(7)	--	3 %	6 %
	(8a)	--	--	8%
	(8b)			3%

^aA percentagem de conversão é baseada no substrato consumido; ^bRendimentos isolados.

Na condição I obtiveram-se dois produtos mono-oxigenados que não foram isolados nas reações realizadas para maiores tempos de reação: a 1:2-epoxiacridina (2) com um rendimento isolado de 8% e a 4-hidroxiacridina (3), com um rendimento de 5%. A espécie ativa no ciclo catalítico da [Mn(TDCPP)Cl] é consensualmente considerada a espécie oxo [Mn(V)=O]^[49] que promove a epoxidação da acridina através de um ataque eletrófilo. Deste modo, a formação do composto 2 é acompanhada pela perda de aromaticidade da molécula, originando também uma ligação de carácter duplo. Esta ligação poderá mais facilmente sofrer um novo ataque eletrófilo da espécie ativa [Mn(V)=O], formando-se um segundo anel de epóxido na molécula. Pode-se portanto explicar que o mono-epóxido não seja encontrado entre os produtos das reações com tempos de reação superiores, onde a quantidade de substrato na mistura reacional é sucessivamente menor.

No caso da 4-hidroxiacridina (3), esta molécula poderá resultar de um rearranjo do mono-epóxido na posição 3:4 dando origem a uma molécula aromática com um grupo hidroxilo na posição 4 ou de uma hidroxilação direta do anel aromático pela espécie ativa. Este tema foi também tratado no capítulo IV.

Os outros dois compostos obtidos na condição I foram os diepóxidos de acridina, sendo o mais abundante o isómero *anti* (composto 4), que foi obtido com rendimento de 20%, enquanto o isómero *sin* (composto 5), foi obtido com rendimento de 5%.

Usando a condição **II** foi possível obter maiores rendimentos para os compostos **4** e **5** relativamente aos obtidos na reação realizada na condição **I**, nomeadamente estes foram obtidos com rendimentos de 25% e 6%, respetivamente.

O baixo rendimento obtido para o isómero *sin* em relação ao seu isómero *anti* pode justificar-se pelo impedimento estereoquímico que existe na introdução do segundo anel de epóxido, sendo preferível a aproximação à espécie ativa do catalisador pela face oposta à do primeiro epóxido.

Na condição **II** foram ainda isoladas pequenas quantidades de produtos resultantes da abertura do anel de epóxido, nomeadamente os compostos **6** e **7**. Ambos os produtos resultam do ataque nucleófilo na posição 1, formando-se um anel com três funcionalidades: o epóxido, um grupo hidroxilo e um novo grupo funcional. O composto **6** foi obtido com rendimento de 2% e resulta da abertura do anel de epóxido pelo ião acetato, proveniente do cocatalisador usado, e o composto **7** foi obtido com um rendimento de 3%, resultante da abertura do anel pelo amoníaco, também proveniente do cocatalisador.

Quando a reação foi realizada na condição **III** (15,5 h), não se observou um aumento significativo no rendimento dos diepóxidos **4** e **5**, no entanto, observou-se um pequeno aumento no rendimento dos produtos resultantes da abertura do anel e foram obtidos os tetraepóxidos **8a** e **8b**, com rendimentos de 8% e 3%, respetivamente.

O composto *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**) foi o composto obtido com maior rendimento em todas as reações.

3.1.1 Ataque nucleófilo na diepoxiacridina

A reação do *anti*-diepóxido (**4**) com 4-etilanilina (figura 3.4) foi realizada como reação modelo para a abertura dos epóxidos isolados e obtenção de novos derivados funcionais.

A reação foi realizada em micro-ondas, usando acetonitrilo como solvente e aquecimento a 80°C durante 10 min. O composto **4** foi completamente e seletivamente convertido no composto **9**, sendo este o único produto observado nesta reação.

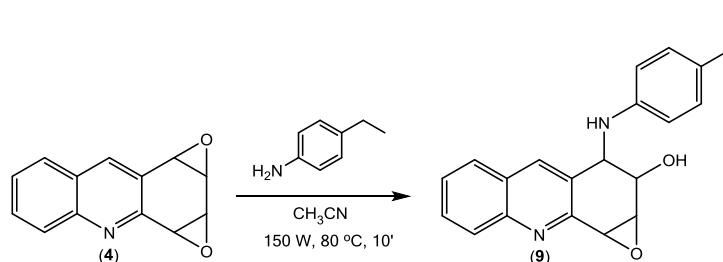


Fig. 3.4 – Esquema da reação de abertura do epóxido da diepoxiacridina (**4**).

3.2 Caracterização dos produtos

Todos os produtos isolados foram caracterizados por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C , e também por espectrometria de massa. A fim de se obter a elucidação estrutural dos novos compostos, para além das técnicas de RMN unidimensionais, foram também usadas técnicas bidimensionais, nomeadamente: a correlação de desvio homonuclear (COSY) para determinar correlações de núcleos ^1H - ^1H ; a correlação heteronuclear de quantum-simples (HSQC) e a correlação heteronuclear de múltiplas ligações (HMBC) para determinar correlações heteronucleares a uma e a duas ou mais ligações, respetivamente; e ainda a espectroscopia do efeito Overhauser nuclear (NOESY) para determinar correlações espaciais de núcleos ^1H - ^1H . Foi ainda utilizada a experiência dos prótons diretamente ligados (APT), para distinguir os átomos de carbonos quaternários, CH, CH_2 e CH_3 . Na análise dos espectros de RMN das novas moléculas, usou-se também como referência o espectro de RMN de ^1H da acridina (**1**) que é apresentado na figura 3.5. Este espectro reflete a aromaticidade e simetria da molécula de substrato, uma vez que se observam apenas cinco sinais na zona aromática, nomeadamente:

- Um singuleto a δ 8,77 ppm referente ao protão mais desprotegido, o protão H-9;
- Dois duplos dupletos, a δ 8,00 ppm e a δ 8,25 ppm correspondente aos prótons H-1, H-4, H-5 e H-8;
- Dois duplos dupletos de dupletos, um a δ 7,54 ppm e outro a δ 7,79 ppm referentes aos prótons H-2, H-3, H-6 e H-7.

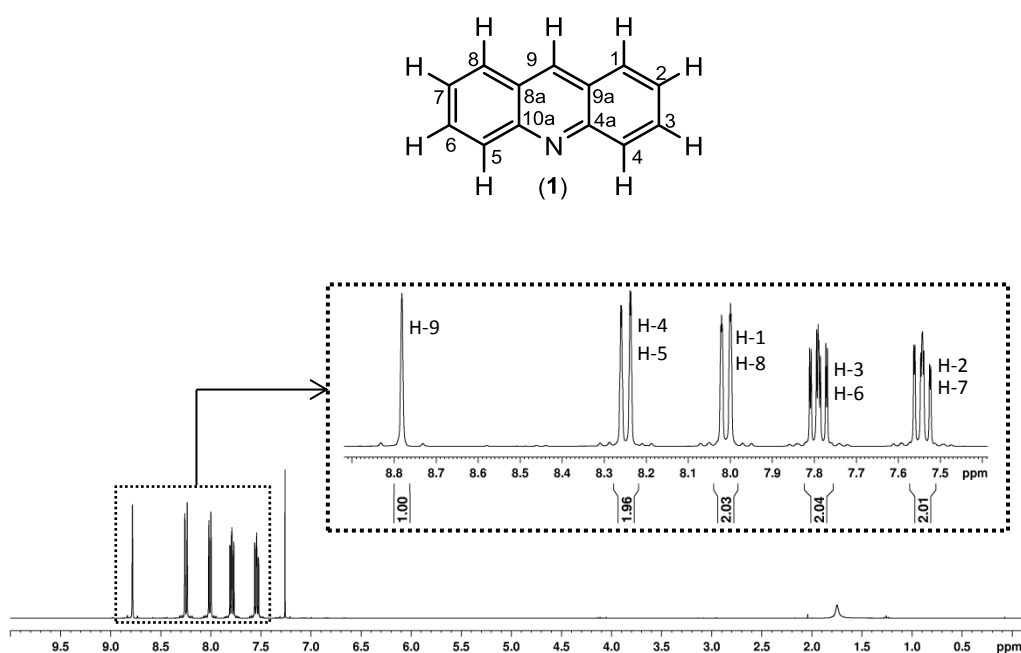


Fig. 3.5 – Espectro de RMN de ^1H da acridina (**1**).

3.2.1 Caracterização da 1:2-epoxiacridina (2)

O espectro de RMN de ^1H da 1:2-epoxiacridina (2), apresentado na figura 3.6, demonstra a perda de simetria e diminuição da aromaticidade neste produto relativamente ao substrato. No espectro podem observar-se nove sinais correspondentes aos 9 prótons da molécula. Uma primeira análise do espectro permite ainda identificar:

- O sinal observado a maior desvio químico é o singuleto a δ 8,36 ppm e que pode ser facilmente identificado como correspondente ao próton H-9;
- Os outros quatro sinais na zona aromática apresentam um padrão de multiplicidade semelhante à observada no espectro do substrato, mas são observados a frequências menores, indicando a permanência de um dos anéis aromáticos na estrutura;
- Os sinais a δ 6,85 ppm e a δ 7,01 ppm correspondem a desvios químicos na fronteira entre a zona aromática e a zona das duplas ligações, e apresentam uma constante de acoplamento $^3J = 10$ Hz, característico das constantes de acoplamento *cis* de ligações duplas;
- Observam-se ainda dois sinais na zona alifática, a δ 4,62 ppm e a δ 4,15 ppm, que estão de acordo com a introdução de um anel de epóxido.

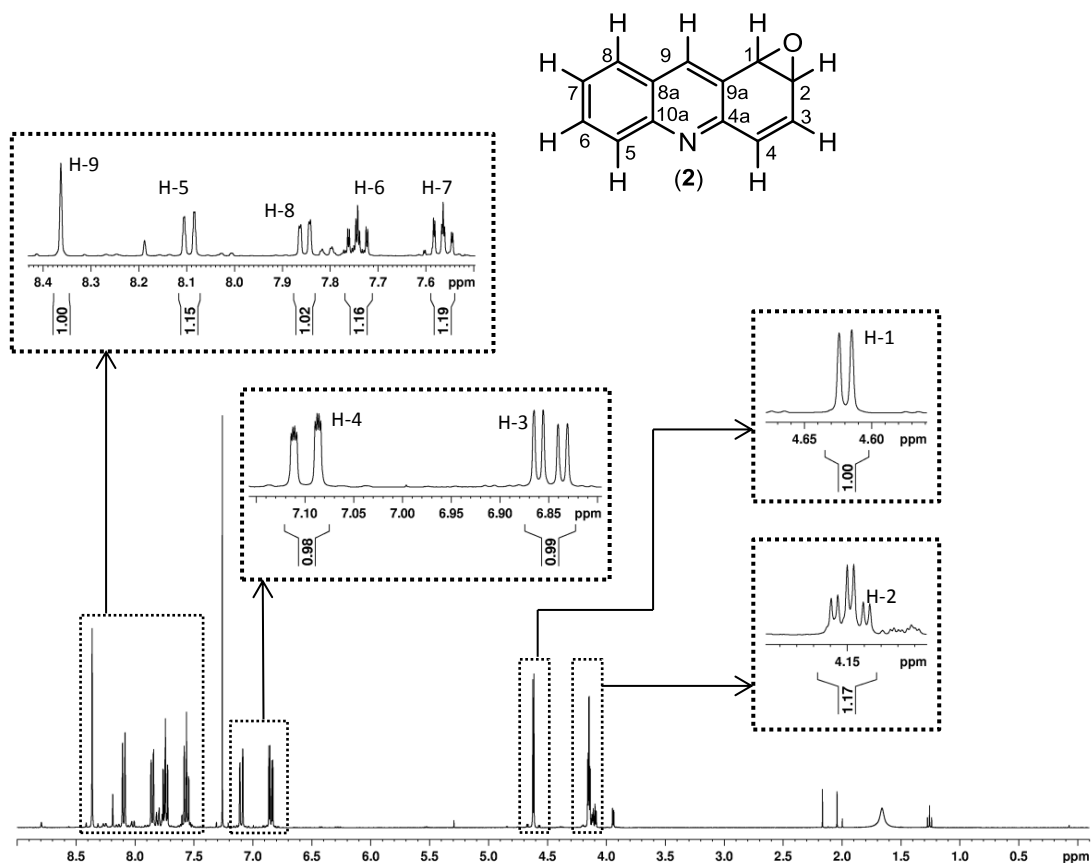


Fig. 3.6 – Espectro de RMN de ^1H da 1:2-epoxiacridina (2).

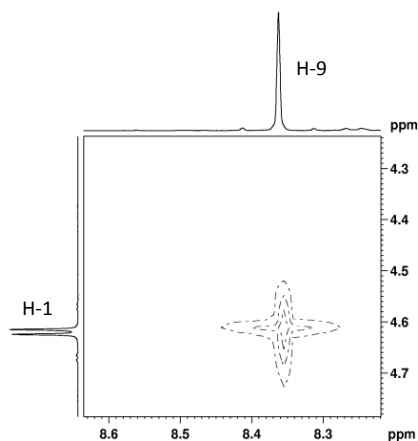


Fig. 3.7 – Expansão do espectro de NOESY da 1:2-epoxiacridina (2).

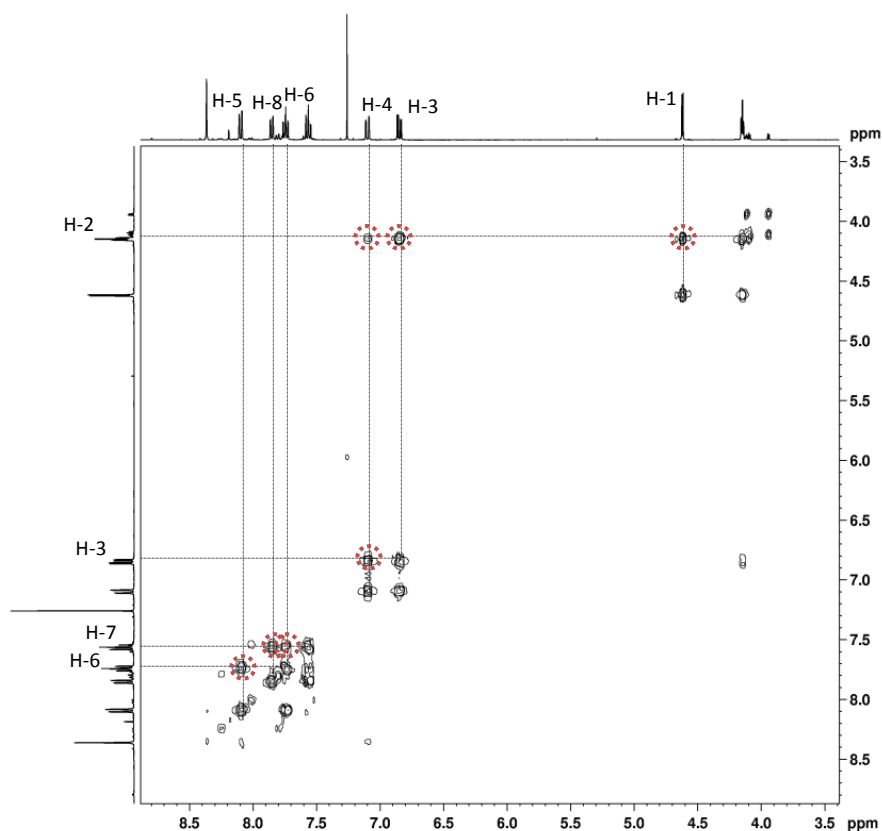


Fig. 3.8 – Espectro de COSY da 1:2-epoxiacridina (2).

Atendendo à multiplicidade dos sinais e aos acoplamentos ^1H - ^1H observados no espectro de COSY (ver à frente) foi possível distinguir os prótons H-2 e H-3, que acoplam fortemente com dois prótons adjacentes, enquanto os prótons H-1 e H-4, que acoplam fortemente com um átomo adjacente.

Permanecia no entanto a dúvida se a introdução do epóxido tinha ocorrido na ligação mais próxima do átomo de N, ou na ligação oposta, portanto nas posições 1:2 ou 3:4 da estrutura da acridina. O espectro de NOESY, apresentado parcialmente na figura 3.7 permite identificar uma correlação espacial entre o próton H-9 e o duplete a δ 4,62 ppm, o próton de menor multiplicidade ligado ao anel do epóxido. Concluiu-se portanto que o epóxido se encontra na posição 1:2 da molécula e não na posição 3:4, sendo possível a atribuição inequívoca dos prótons H-1-4.

Estas atribuições foram confirmadas pelas correlações observadas no espectro de COSY (figura 3.8):

- O sinal a δ 4,15 ppm, correspondente ao próton H-2 adjacente ao epóxido, acopla com três prótons: com H-1, H-3 e menos fortemente com o próton H-4;
- O próton H-3 (δ 6,85 ppm) acopla com o H-4 (δ 7,01 ppm);
- Na zona aromática o próton H-7 (δ 7,56 ppm) acopla com o H-8 (δ 7,85 ppm) e com o H-6 (δ 7,74 ppm), que por sua vez acopla com o H-5 (δ 8,09 ppm).

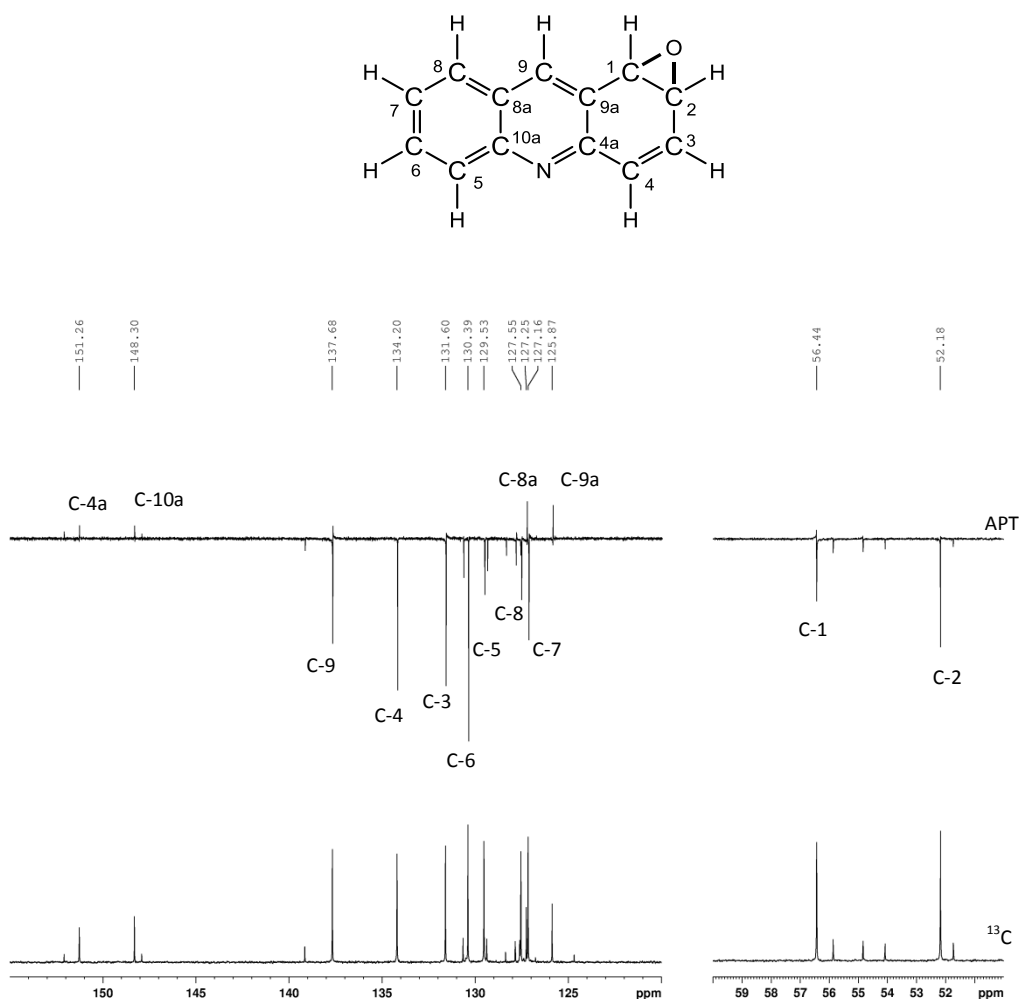


Fig. 3.9 – Espectro de RMN de ^{13}C da 1:2-epoxiacridina (2), juntamente com a experiência APT.

Através da análise do espectro de RMN de ^{13}C bem como o espectro da experiência APT (Figura 3.9) foi possível identificar:

- A presença de treze sinais correspondentes a todos os carbonos da 1:2-epoxiacridina (**2**);
- Quatro carbonos quaternários (C-4a, C-10a, C-8a e C-9a), que foram distinguidos dos restantes pela experiência APT;
- Dois sinais a δ 56,4 ppm e a δ 52,2 ppm que correspondem aos carbonos adjacentes ao epóxido C-1 e C-2, respetivamente;
- Sete sinais com desvio característico de carbonos aromáticos e ligação dupla.

Todos os carbonos foram assinalados com base nas conectividades encontradas nos espectros de HSQC e HMBC que permitiram também identificar inequivocamente os prótons aromáticos H-5-8.

O espectro de correlação heteronuclear HSQC, apresentado na figura 3.10, permitiu a atribuição dos carbonos que têm hidrogénios directamente ligados.

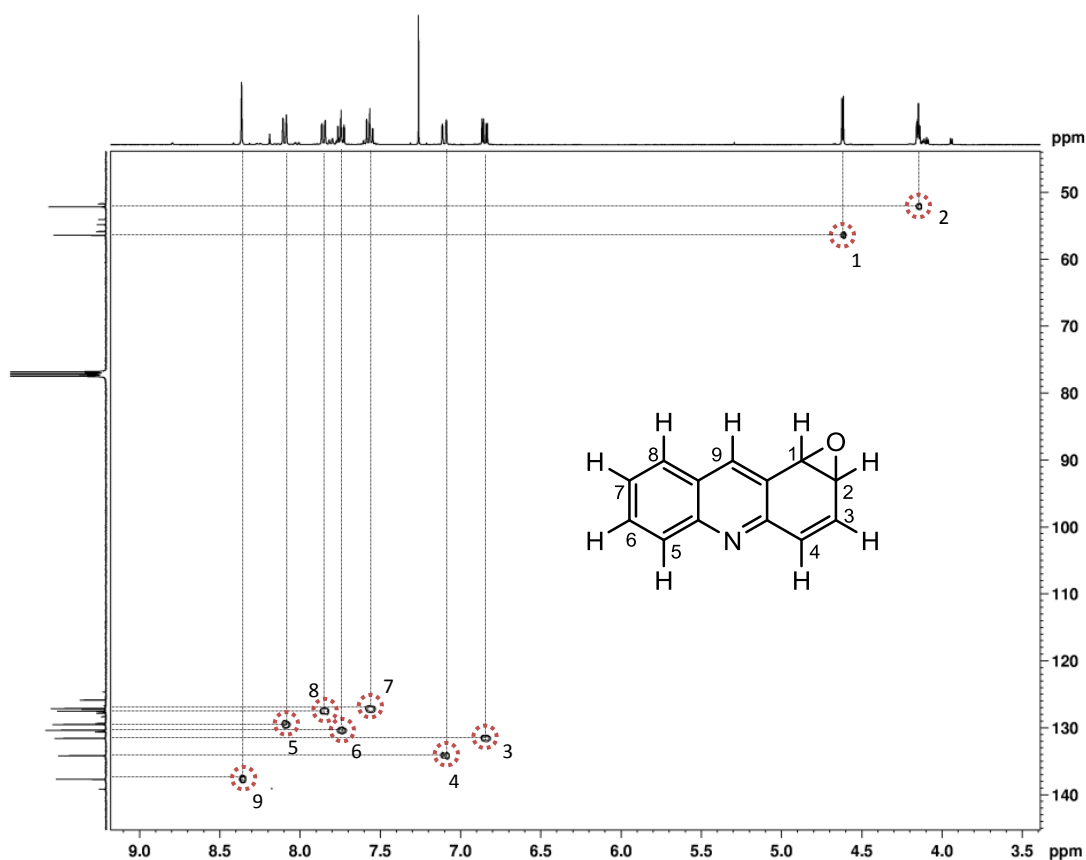


Fig. 3.10 – Espectro de HSQC da 1:2-epoxiacridina (**2**).

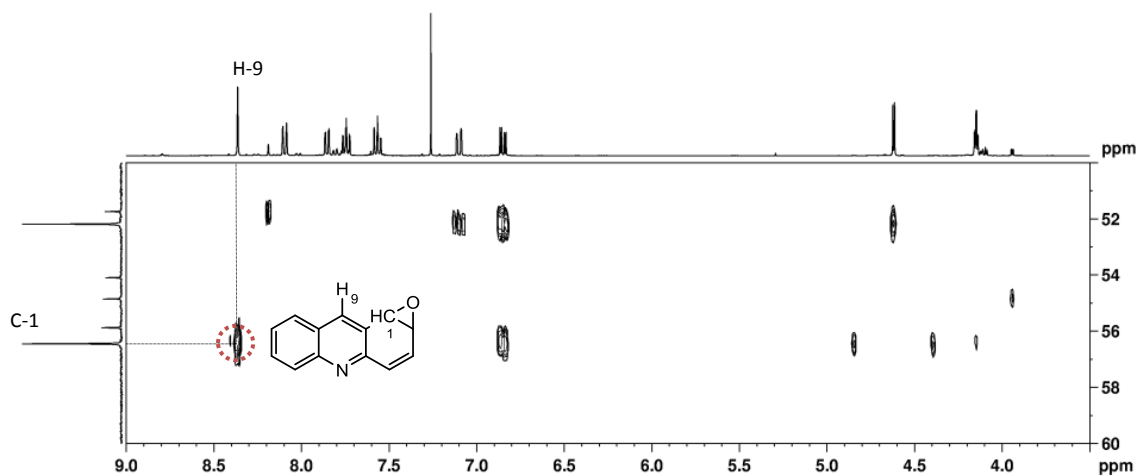


Fig. 3.11 – Expansão do espectro de HMBC da 1:2-epoxiacridina (2) na zona ^{13}C alifática.

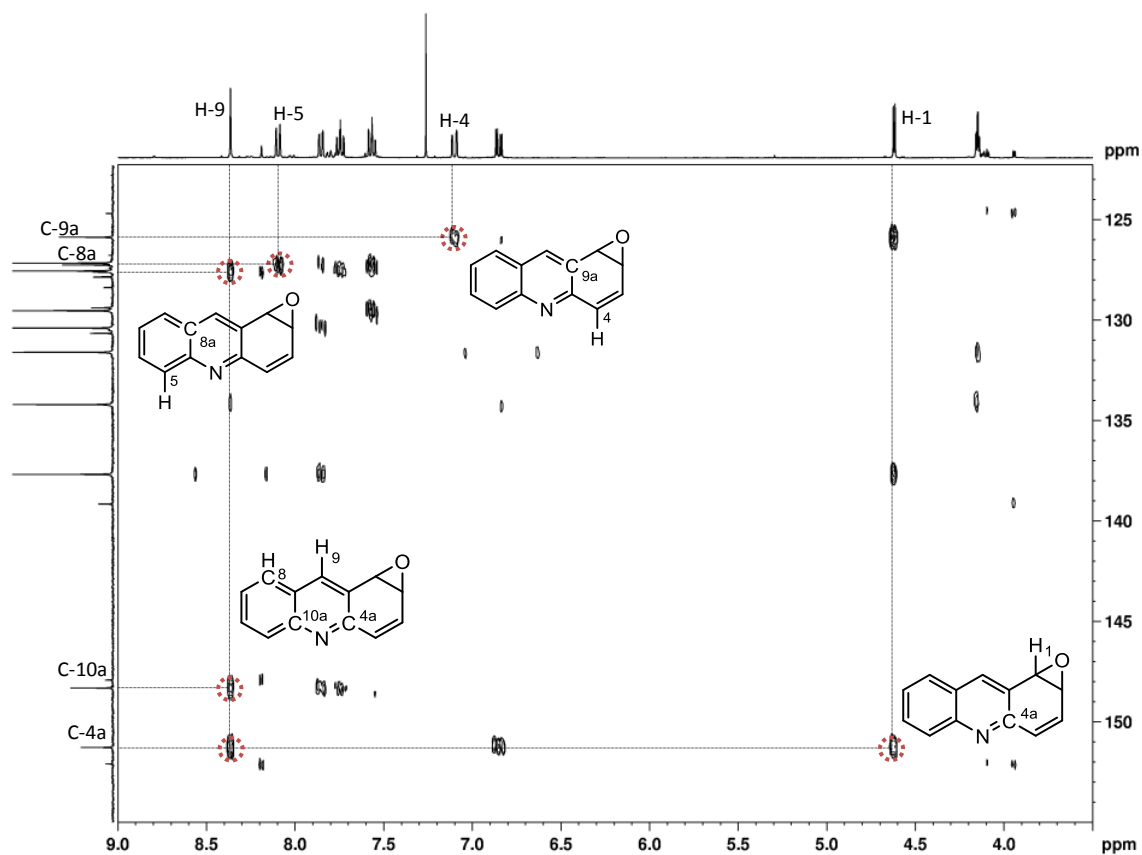


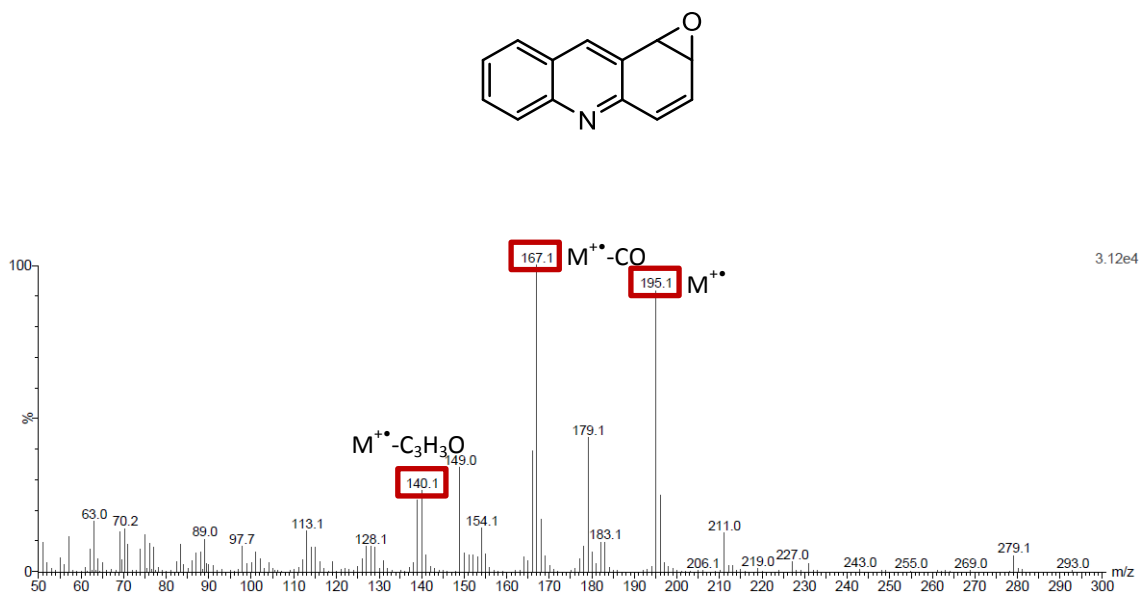
Fig. 3.12 – Expansão do espectro de HMBC da 1:2-epoxiacridina (2) na zona ^{13}C aromática.

O estudo do espectro de HMBC da 1:2-epoxiacridina (**2**) apresentado nas figuras 3.11 e 3.12 permitiu:

- Confirmar que o epóxido se encontra na posição 1:2, já que existe uma correlação $^3J_{CH}$ entre o protão H-9 e o carbono C-1, identificada na figura 3.11;
- A atribuição de todos os sinais correspondentes aos carbonos quaternários (figura 3.12):
 - O carbono C-9a a δ 125,9 ppm, que correlaciona com o protão H-4;
 - O carbono C-8a a δ 127,2 ppm, que correlaciona com o protão H-5;
 - O carbono C-10a a δ 148,3 ppm, que correlaciona com os protões H-9, H-8 e H-6;
 - E o carbono C-4a a δ 151,3 ppm, que correlaciona com os protões H-9, H-1 e H-3.

A partir destas atribuições foi também possível atribuir inequivocamente os carbonos do anel aromático, partindo do acoplamento do H-8 com C-9 complementado pelas respetivas conectividades no espectro de COSY.

O espectro de massa da 1:2-epoxiacridina (**2**) obtido com ionização por impacto eletrónico (Figura 3.13) confirma a estrutura obtida com os estudos anteriores. Neste espectro está identificado o pico do ião molecular (M^{+}) com $m/z = 195$, assim como os picos correspondentes às perdas sucessivas dos fragmentos CO e C_2H_3 .



3.2.2 Caracterização da 4-hidroxiacridina (3)

O espectro de RMN de ^1H da 4-hidroxiacridina (3) (figura 3.14) mostra 8 sinais na zona aromática do espectro, e conseqüentemente, neste caso, a funcionalização não levou a uma perda de aromaticidade mas a uma perda de simetria relativamente ao substrato. O espectro está de acordo com a introdução de um grupo hidroxilo, no entanto o protão correspondente não é visível devido à sua labilidade. A partir deste espectro foi possível tirar as seguintes conclusões:

- O singuleto a δ 8,77 ppm corresponde ao protão H-9;
- Os sinais dos protões H-5, H-6, H-7 e H-8 têm uma forma semelhante aos sinais dos protões equivalentes no espectro de RMN de ^1H da acridina e da 1:2-epoxiacridina (2), mas são observados a desvios químicos semelhantes aos da acridina (1);
- Os três sinais restantes são atribuídos aos protões do anel funcionalizado, observados a menores frequências de acordo com o efeito dador de elétrons do grupo hidroxilo. São observados três duplos dupletos a δ 7,53 ppm, δ 7,46 ppm e δ 7,20 ppm, sendo que o protão a δ 7,46 acopla com 2 protões adjacentes, enquanto os outros dois protões acoplam com um protão adjacente e um protão ao longo de quatro ligações.

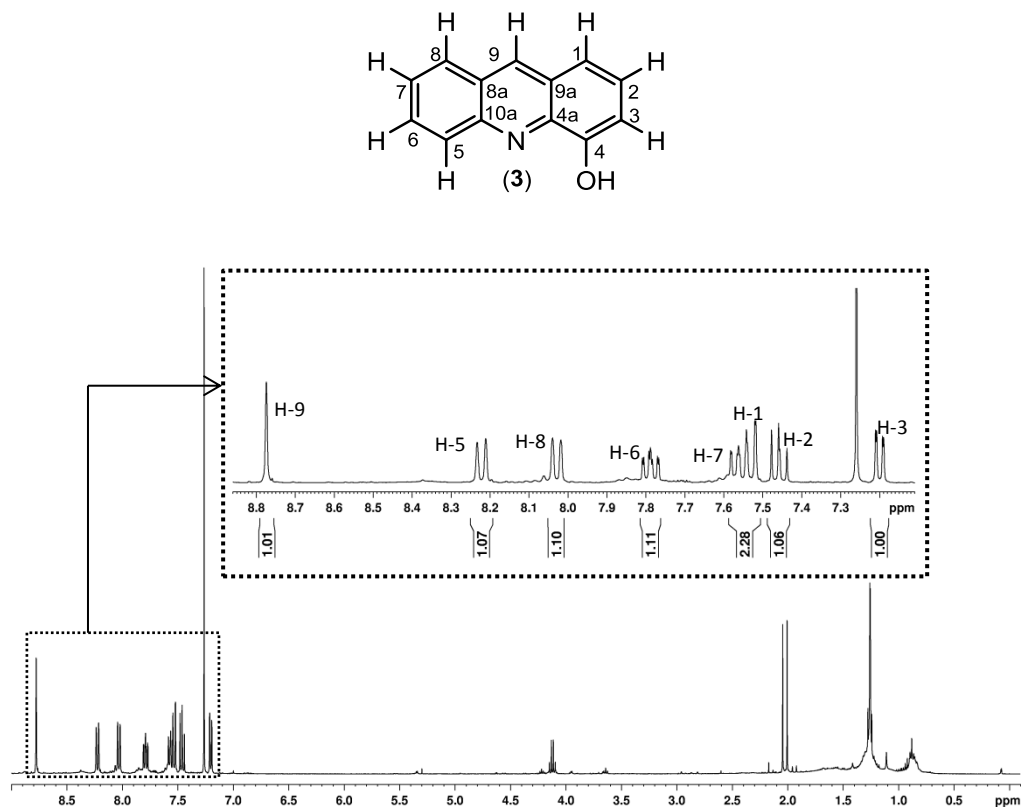


Fig. 3.14 – Espectro de RMN de ^1H da 4-hidroxiacridina (3).

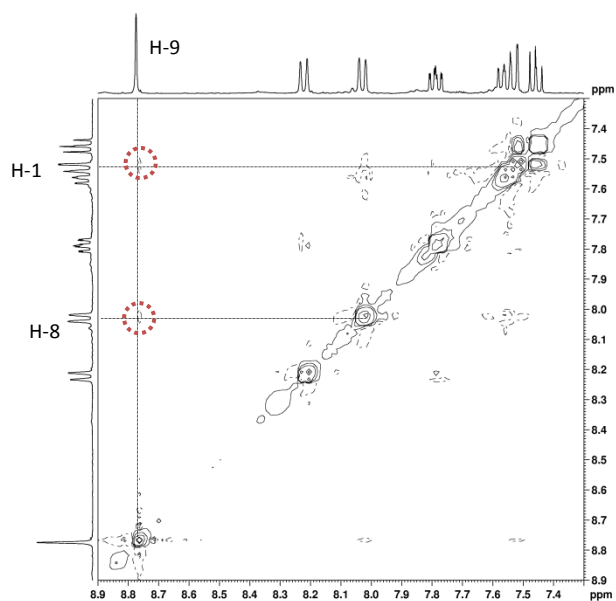


Fig. 3.15 – Espectro de NOESY da 4-hidroxiacridina (3).

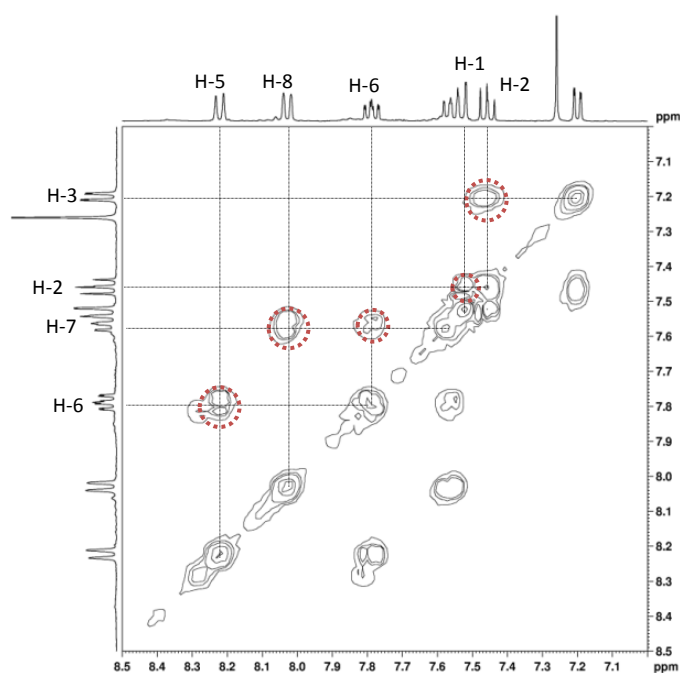


Fig. 3.16 – Espectro de COSY da 4-hidroxiacridina (3).

O espectro bidimensional NOESY, apresentado na figura 3.16, mostra uma correlação espacial entre o sinal correspondente ao protão H-9, a δ 8.77 ppm, e os sinais a 8,03 e a 7,56 ppm que consequentemente podem ser atribuídos aos protões H-8 e H-1, respetivamente.

No espectro bidimensional COSY (figura 3.16) foi possível observar as seguintes correlações ^1H - ^1H que permitiram a atribuição dos outros protões na molécula:

- O H-1, a δ 7,53 ppm, correlaciona com o H-2, a δ 7,46 ppm, que por sua vez correlaciona com o H-3, a δ 7,20 ppm;

- O H-8, a δ 8,03 ppm correlaciona com o H-7 (a δ 7,56 ppm) e este correlaciona também com H-6, a δ 7,79 ppm. O H-6, por sua vez, correlaciona também com o H-5 (a δ 8,22 ppm).

Estes resultados confirmam a presença do grupo hidroxilo na posição 4.

O espectro de RMN de ^{13}C da 4-hidroxiacridina (**3**) encontra-se na figura 3.17, assim como a experiência APT. A partir do estudo destes dois espectros foi possível observar:

- Treze sinais de carbonos diferentes na zona aromática, correspondentes a todos os carbonos da molécula;

- A presença de 5 carbonos quaternários (distinguidos pela experiência APT. O sinal observado a maior frequência, a δ 151,9 ppm, é atribuído ao carbono C-4, adjacente ao grupo hidroxilo;

- Oito sinais de carbonos correspondentes aos oito $-\text{CH}$ aromáticos da 4-hidroxiacridina (**3**) foram também atribuídos por análise dos espectros de HSQC e HMBC.

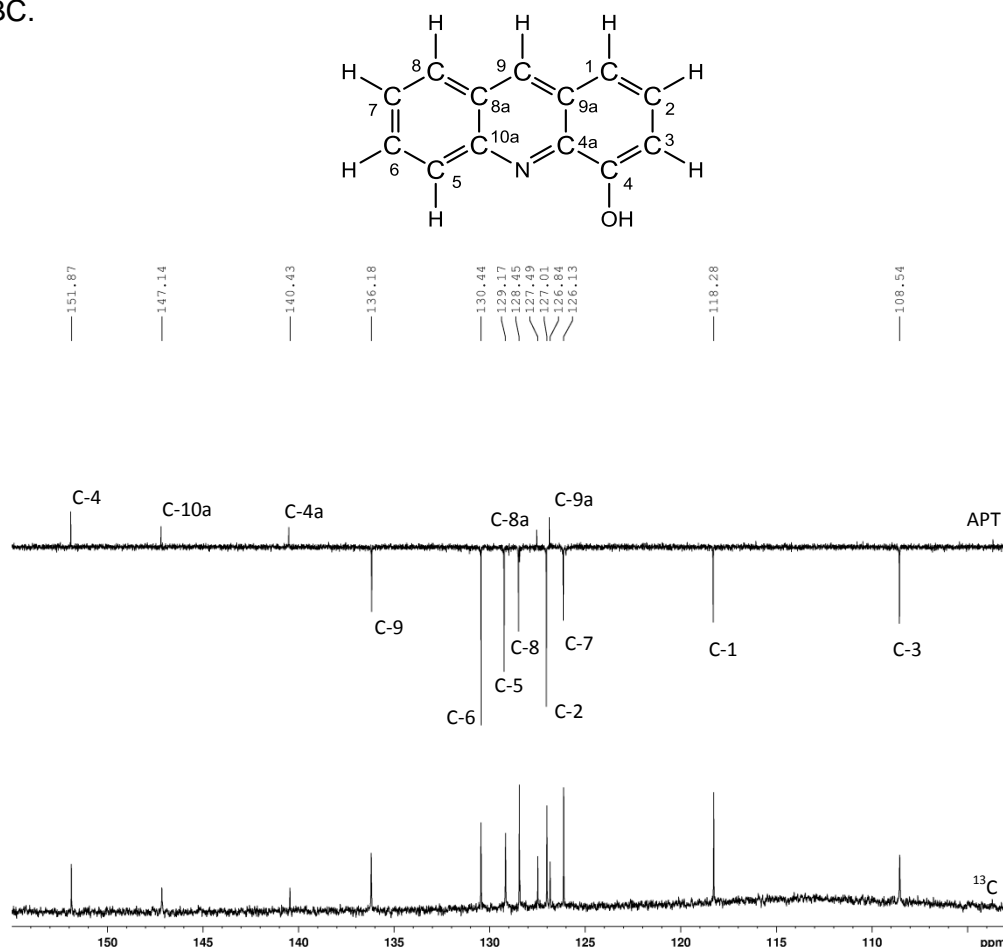


Fig. 3.17 – Espectro de RMN de ^{13}C da 4-hidroxiacridina (**3**), juntamente com a experiência APT.

Recorrendo ao espectro bidimensional HSQC, apresentado na figura 3.18, foi possível obter a correlação de acoplamento heteronuclear através de uma ligação ^1H - ^{13}C ($^1J_{\text{CH}}$).

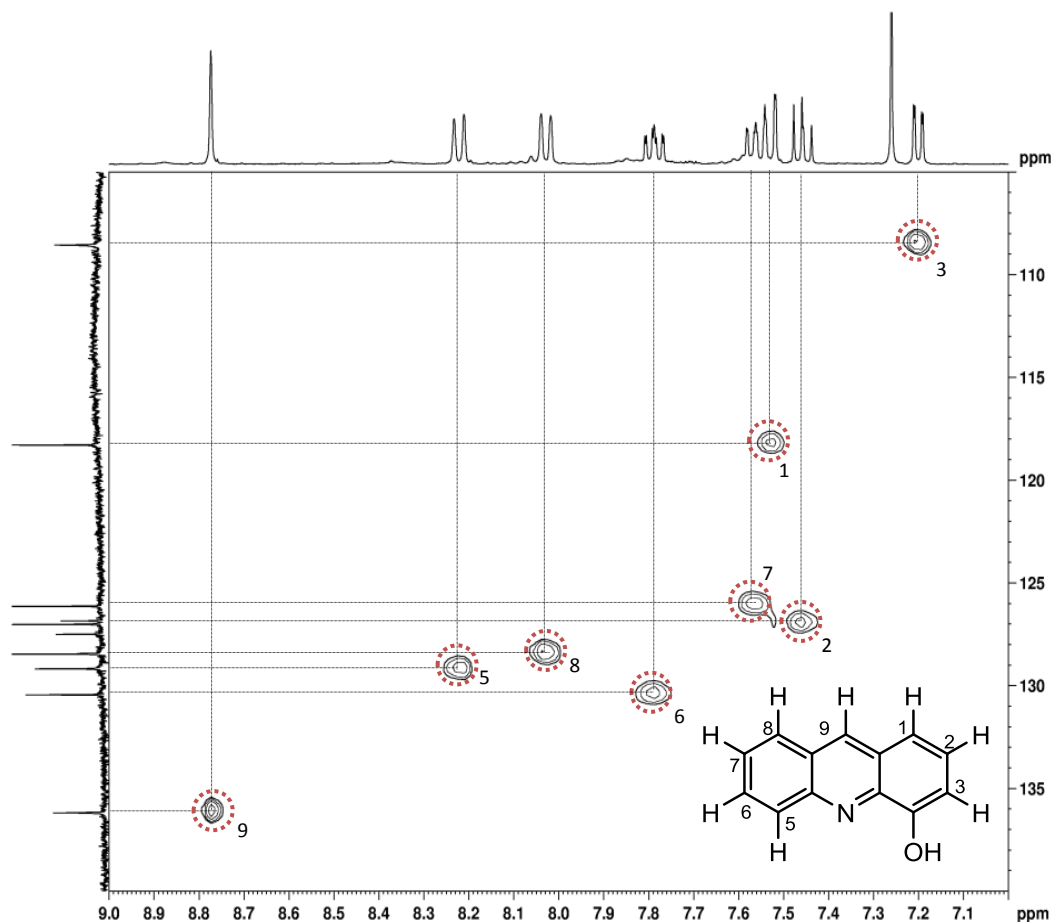


Fig. 3.18 – Espectro de HSQC da 4-hidroxiacridina (3).

O estudo do espectro bidimensional de correlação heteronuclear a múltiplas ligações HMBC apresentado na figura 3.19 permitiu:

- A confirmação de que o grupo hidroxilo se encontra na posição 4, uma vez que há uma correlação $^3J_{\text{CH}}$ entre o próton H-2 e o carbono C-4;
- A identificação de todos os sinais correspondentes aos carbonos quaternários:
 - O carbono C-9a a δ 126,8 ppm, que correlaciona com o próton H-2;
 - O carbono C-8a a δ 127,5 ppm, que correlaciona com o próton H-5;
 - O carbono C-4a a δ 140,4 ppm, que correlaciona com o próton H-9 e com o próton H-3;
 - E o carbono C-10a a δ 147,1 ppm, que correlaciona com o próton H-9 e H-8.

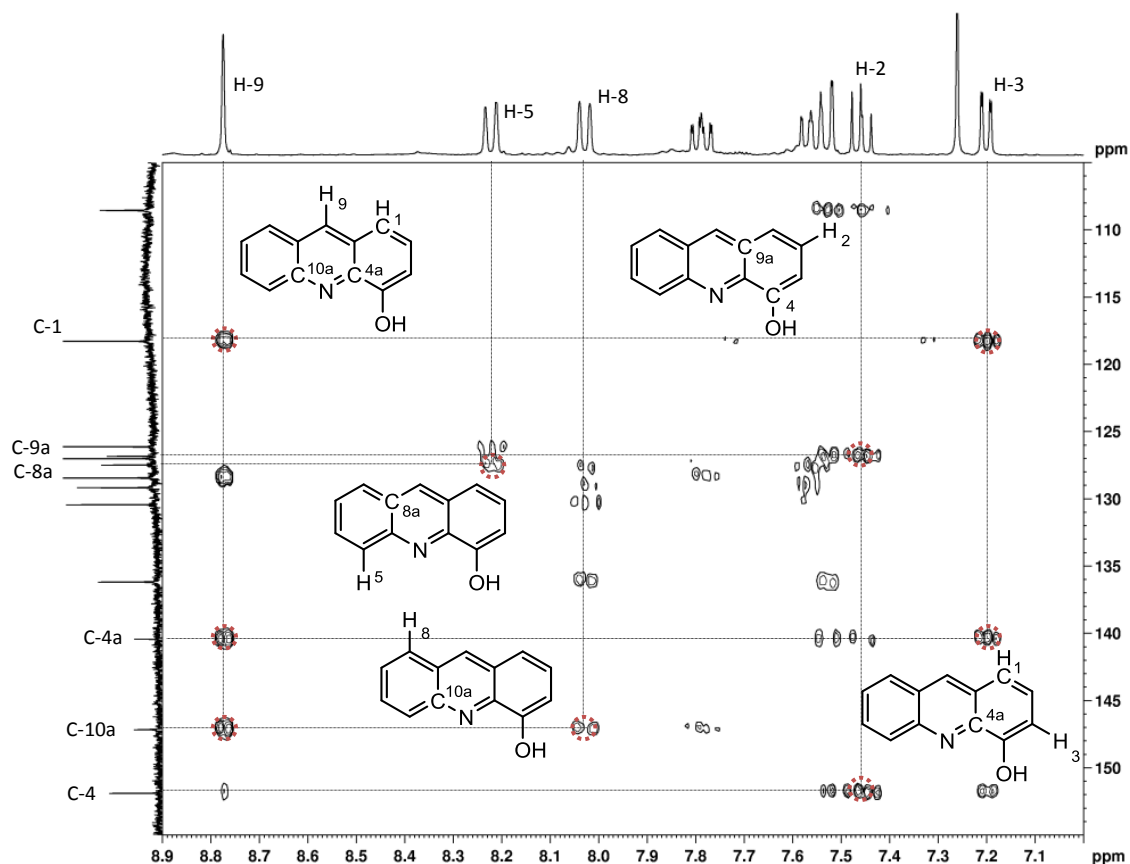


Fig. 3.19 – Espectro de HMBC da 4-hidroxiacridina (3).

O espectro de massa da 4-hidroxiacridina (3) é muito semelhante ao da 1:2-epoxiacridina (2), como se pode ver na figura 3.20. Estes dois compostos puderam ser distinguidos pelos estudos de RMN. Neste espectro está identificado o pico do ião molecular (M^{+}) com $m/z = 195$ e dos dois principais fragmentos a $m/z = 167$ e a $m/z = 139/140$.

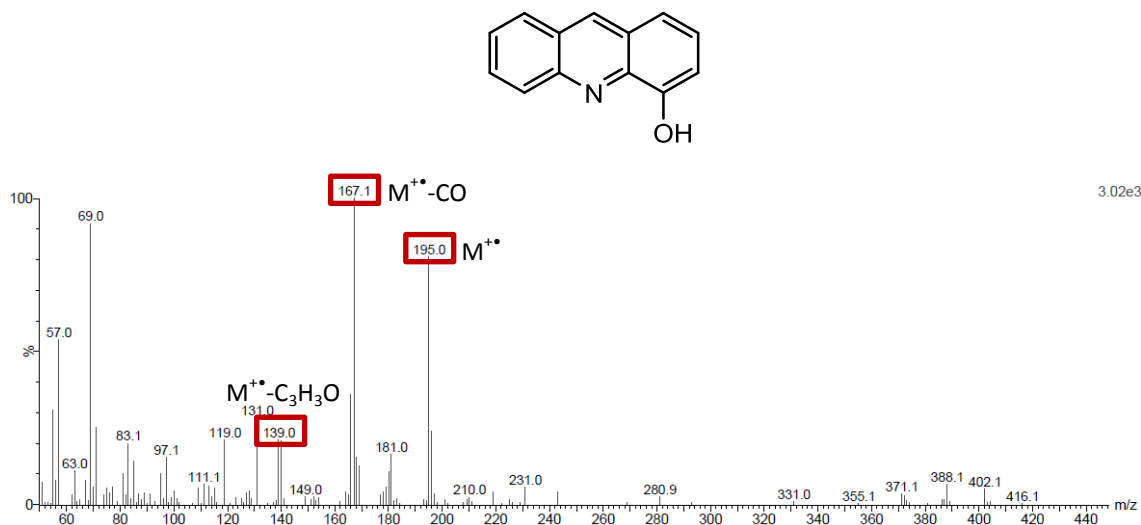


Fig. 3.20 – Espectro de massa da 4-hidroxiacridina (3).

3.2.3 Caracterização da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4)

O espectro de RMN de ^1H da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4) (figura 3.21) apresenta semelhanças com o espectro do mono-epóxido 2, mas os sinais correspondentes aos prótons olefínicos deste último são agora observados na região das ligações C-O. Este espectro está de acordo com a introdução de um segundo anel de epóxido na ligação dupla do composto 2. Os desvios químicos observados para os sinais dos 9 prótons da molécula, são coerentes com a menor aromaticidade deste composto relativamente aos compostos descritos anteriormente. Nomeadamente, a partir deste espectro foi possível observar:

- O singuleto correspondente a H-9 é agora observado a δ 8,20 ppm com um $\Delta\delta$ de 0,57 ppm relativamente à acridina (1) e um $\Delta\delta$ de 0,16 ppm relativamente ao mono-epóxido 2;
- Os sinais dos outros quatro prótons na zona aromática, H-5-8, apresentam um padrão de multiplicidade semelhante aos dos compostos anteriores, mas a menores frequências;
- Na zona alifática do espectro observam-se os restantes quatro sinais correspondentes aos prótons H-1-4, adjacentes aos dois anéis de epóxido;
- Os dois sinais a menores frequências são dupletos com posteriores desdobramentos de pequena intensidade devido a acoplamentos a quatro ligações, estes sinais podem ser facilmente atribuídos aos prótons H-1 e H-4;
- Entre 4,11 e 4,16 ppm encontram-se dois multipletos atribuídos aos prótons H-2 e H-3 de acordo com a maior complexidade dos acoplamentos esperados para estes prótons.

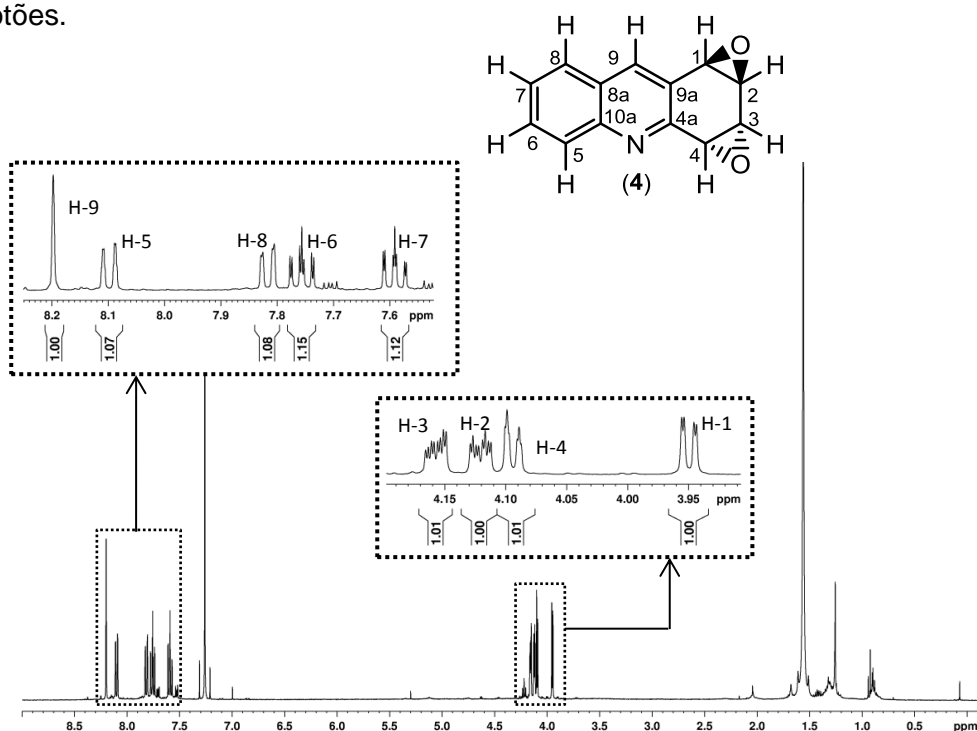


Fig. 3.21 – Espectro de RMN de ^1H da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4).

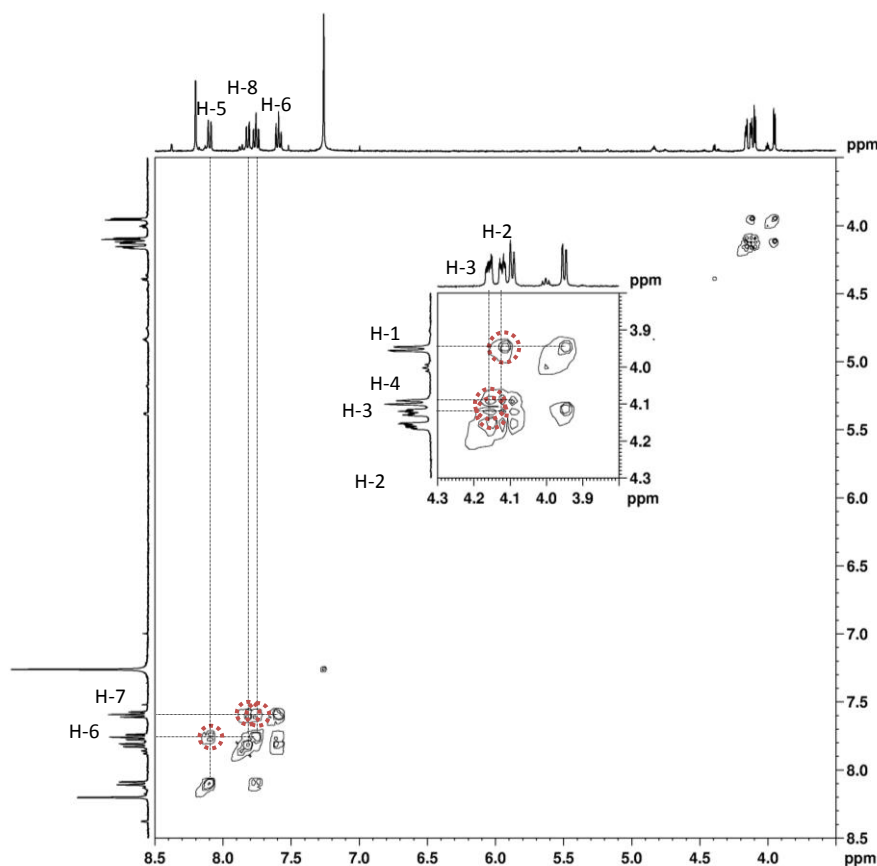


Fig. 3.22 – Espectro de COSY da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4).

As atribuições feitas puderam ser confirmadas através do espectro de COSY (figura 3.22) onde se observam as seguintes correlações ^1H - ^1H :

- O multiplete a δ 4,11-4,13 ppm correlaciona com o duplo duplete a δ 3,95 ppm e com o multiplete a δ 4,15-4,17 ppm, que por sua vez correlaciona com o duplete a δ 4,10 ppm;
- O sinal a δ 7,76 ppm correlaciona com o sinal a δ 8,10 ppm e o sinal a δ 7,59 ppm, que por sua vez correlaciona com o sinal a δ 7,82 ppm.

Atendendo aos assinalamentos obtidos para os compostos anteriores seria esperável que os sinais mais afastados do átomo de azoto fossem observados a menores frequências devido ao efeito indutor desprotetor deste heteroátomo. Deste modo, e de acordo com o indicado na figura 3.21, seria esperável que H-5 fosse o sinal observado a δ 8,10 ppm e H-1 o sinal a δ 3,95 ppm. No espectro de NOESY a correlação entre o protão H-9 e o protão H-1 (a δ 3,95 ppm) podia ser considerada devido à observação de um pequeno sinal, mas não de forma segura, consequentemente, estas atribuições foram apenas inequivocamente confirmadas com os espectros de HSQC e HMBC, como se encontra descrito a seguir.

Permanecia ainda a dúvida sobre a estereoquímica do composto, nomeadamente se a adição dos dois anéis de epóxido ocorrera em faces opostas ou na mesma face, levando respetivamente a configurações *anti* ou *sin*. A identificação de uma configuração *anti* no composto **4** foi baseada na comparação dos desvios químicos no espectro de RMN de ^1H com o outro diepóxido obtido, o composto **5** (secção 3.2.4), e com os dados descritos para compostos análogos na literatura^[13,16], em que os desvios químicos dos prótons H-1 e H-4 do isómero *sin* são observados a maiores frequências do que os do isómero *anti*.

Por outro lado, os rendimentos relativos dos dois compostos também estão de acordo com o maior rendimento esperado para o isómero *anti* relativamente ao isómero *sin*, devido ao menor impedimento estereoquímico da introdução do segundo epóxido pela face oposta ao primeiro. Esta atribuição foi confirmada por cálculos teóricos de RMN de ^1H descritos no capítulo IV.

O espectro de RMN de ^{13}C da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**) encontra-se na figura 3.23, assim como a experiência APT. A partir destes dois espectros foi possível observar:

- Treze sinais de carbonos diferentes, correspondentes a todos os carbonos da molécula;
- A presença de 4 sinais correspondentes aos carbonos quaternários (C-4a, C-10a, C-8a e C-9a), que apenas são visíveis no espectro de RMN de ^{13}C , mas que são fáceis de identificar comparando com a experiência APT;
- Cinco sinais de carbonos correspondentes aos cinco $-\underline{\text{C}}\text{H}$ aromáticos;
- Quatro sinais na zona alifática, correspondentes aos quatro carbonos C-1-4 (adjacentes aos epóxidos).

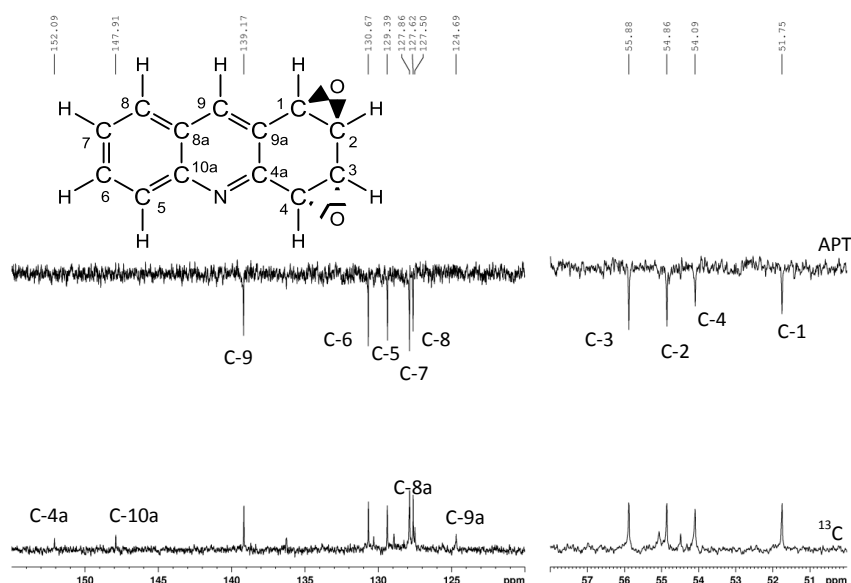


Fig. 3.23 – Espectro de RMN de ^{13}C da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**), juntamente com a experiência APT.

O estudo do espectro bidimensional HSQC, apresentado na figura 3.24, permitiu a identificação dos carbonos e hidrogénios com correlação $^1J_{CH}$.

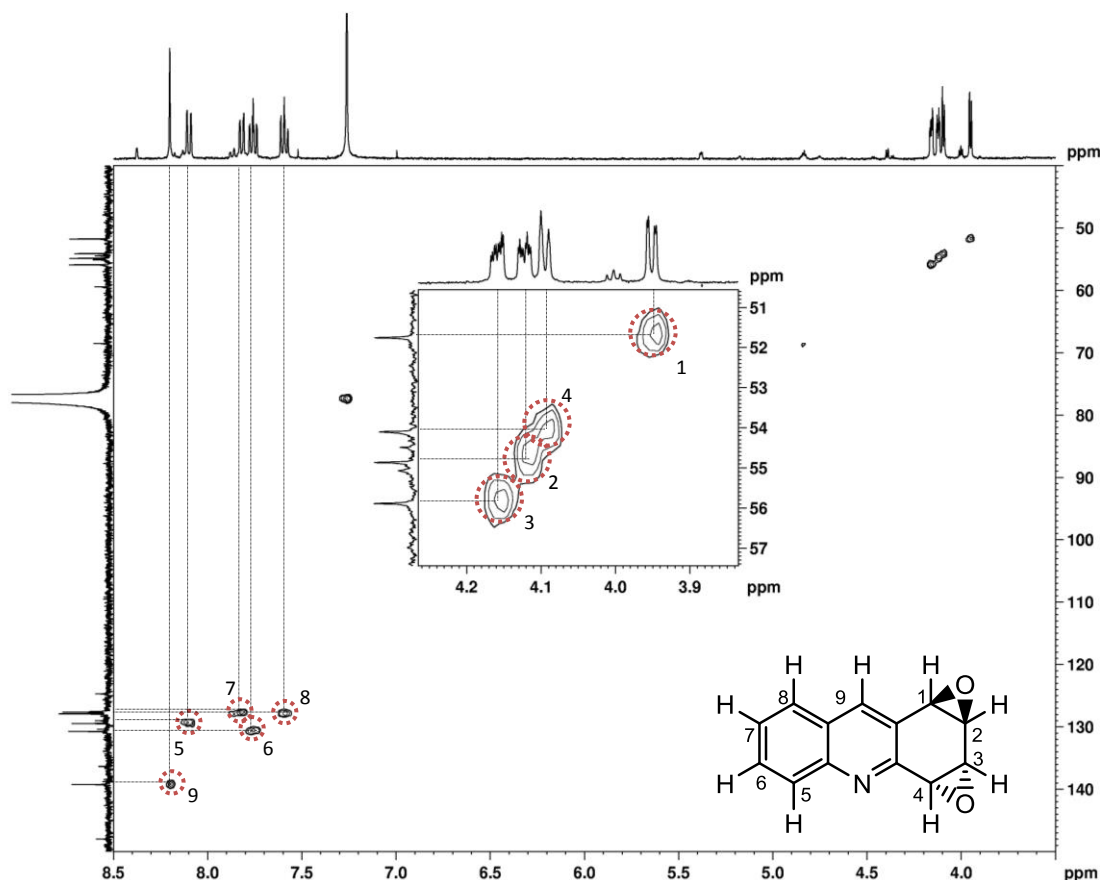


Fig. 3.24 – Espectro de HSQC da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**).

A partir do estudo do espectro de correlação heteronuclear a 3-4 ligações, HMBC, apresentado na figura 3.25 foi possível tirar as seguintes conclusões:

- Este espectro mostra uma correlação $^3J_{CH}$ entre o protão H-9 e os carbonos C-1 e C-8 e ainda uma correlação $^3J_{CH}$ entre o protão H-1 e o carbono C-9, consequentemente, o sinal a δ 52,4 ppm corresponde ao C-1, e o sinal a δ 127,6 ppm corresponde ao C-8, corroborando a atribuição dos protões e dos carbonos apresentada;
- Foi possível identificar dois dos sinais correspondentes aos carbonos quaternários:
 - O carbono C-10a a δ 147,9 ppm, que correlaciona com o protão H-9;
 - E o carbono C-4a a δ 152,1 ppm, que correlaciona com H-1 e H-9.
- Os sinais dos carbonos C-9a e C-8a foram atribuídos usando como comparação os espectros do isómero *sin* deste composto:
 - O carbono C-9a a δ 124,7 ppm;
 - E o carbono C-8a a δ 127,5 ppm.

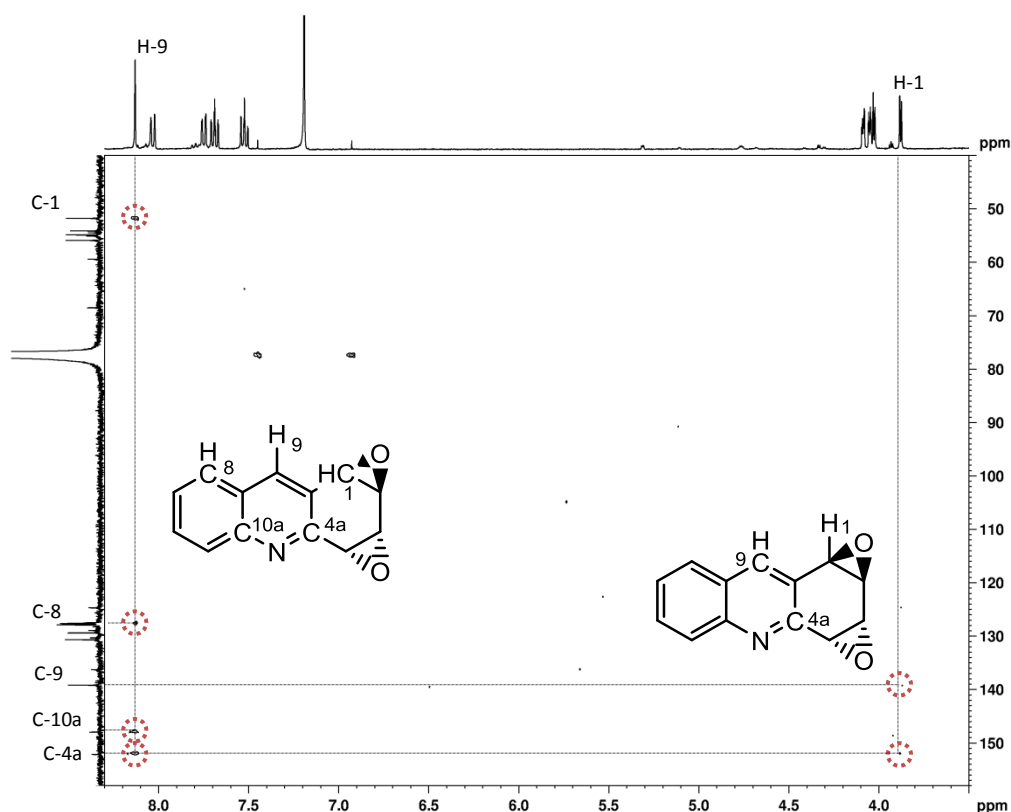


Fig. 3.25 – Espectro de HMBC da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**).

O espectro de massa da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**) está apresentado na figura 3.26. Neste espectro está identificado o pico do ião molecular (M^{+}) com $m/z = 211$. Estão também identificados outros três picos correspondentes a três sucessivas perdas de fragmentos, de CHO, CO e C_2H e que corroboram a estrutura de diepóxido.

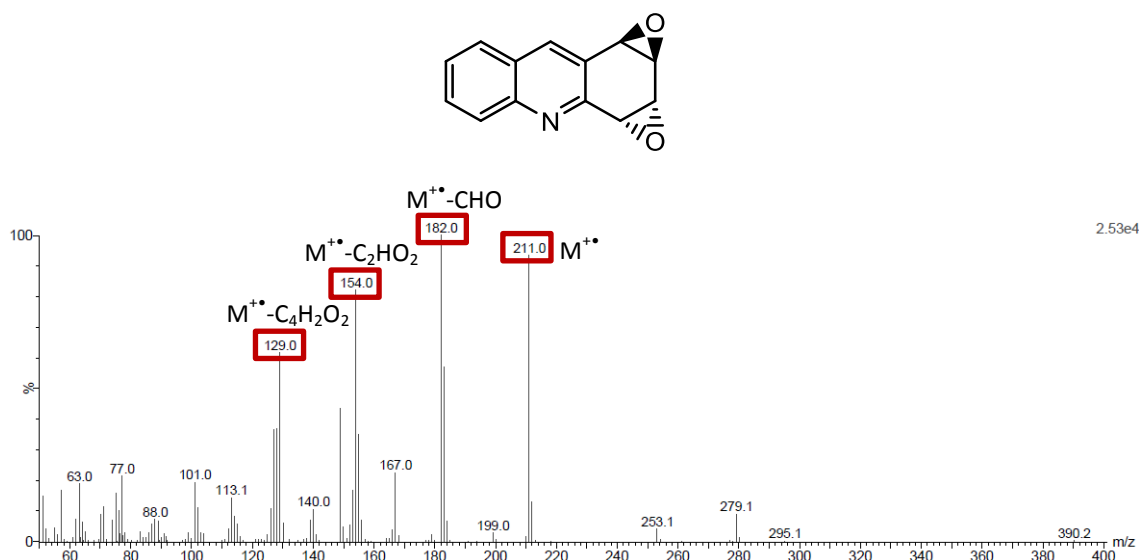


Fig. 3.26 – Espectro de massa da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**).

3.2.4 Caracterização da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**)

A figura 3.27 mostra o espectro de RMN de ^1H da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**). A comparação deste espectro com o do seu isómero *anti*, o composto **4**, permitiu obter as seguintes conclusões:

- Na zona aromática a multiplicidade e a ordem dos picos são idênticas nos espectros de ambos os isómeros *anti* e *sin*; no entanto, enquanto os sinais do anel aromático periférico se encontram apenas ligeiramente desviados para frequências maiores ($\Delta\delta \sim 0,05$ ppm), no composto **5** o singuleto atribuído a H-9 encontra-se a frequência significativamente maior (δ 8,41 ppm) com $\Delta\delta$ de 0,22 ppm relativamente ao do composto **4**, o que demonstra o efeito da diferente conformação no anel adjacente;

- Os sinais na zona alifática evidenciam este efeito. Os dois dupletos atribuídos aos prótons H-1 e H-4 no isómero *sin* (**5**) encontram-se a maiores valores de frequência, nomeadamente a δ 4,21 e 4,29 ppm relativamente ao isómero *anti* (**4**) e que correspondem respetivamente a $\Delta\delta$ de 0,26 e 0,19;

- A multiplicidade dos sinais atribuídos aos prótons H-2 e H-3 é inferior à observada no composto **4**; estes sinais são observados como tripletos no isómero *sin* e como multipletos no isómero *anti*. Esta observação está de acordo com uma distribuição mais equivalente dos prótons no anel e, portanto, com uma configuração *sin*.

As diferenças observadas nos desvios dos prótons H-1, H-4 e H-9 nos dois isómeros *anti* e *sin* devem estar relacionadas com o efeito indutor e anisotrópico proporcionado pelo posicionamento dos dois átomos de oxigénio na mesma face ou em faces opostas do anel. No caso do isómero *sin* este efeito sobrepõe-se acentuando o efeito desprotetor nos prótons vizinhos.

Estas atribuições foram confirmadas com os espectros de COSY, HSQC e HMBC e a configuração *sin* confirmada por cálculos teóricos dos desvios químicos de RMN de ^1H descritos no capítulo IV.

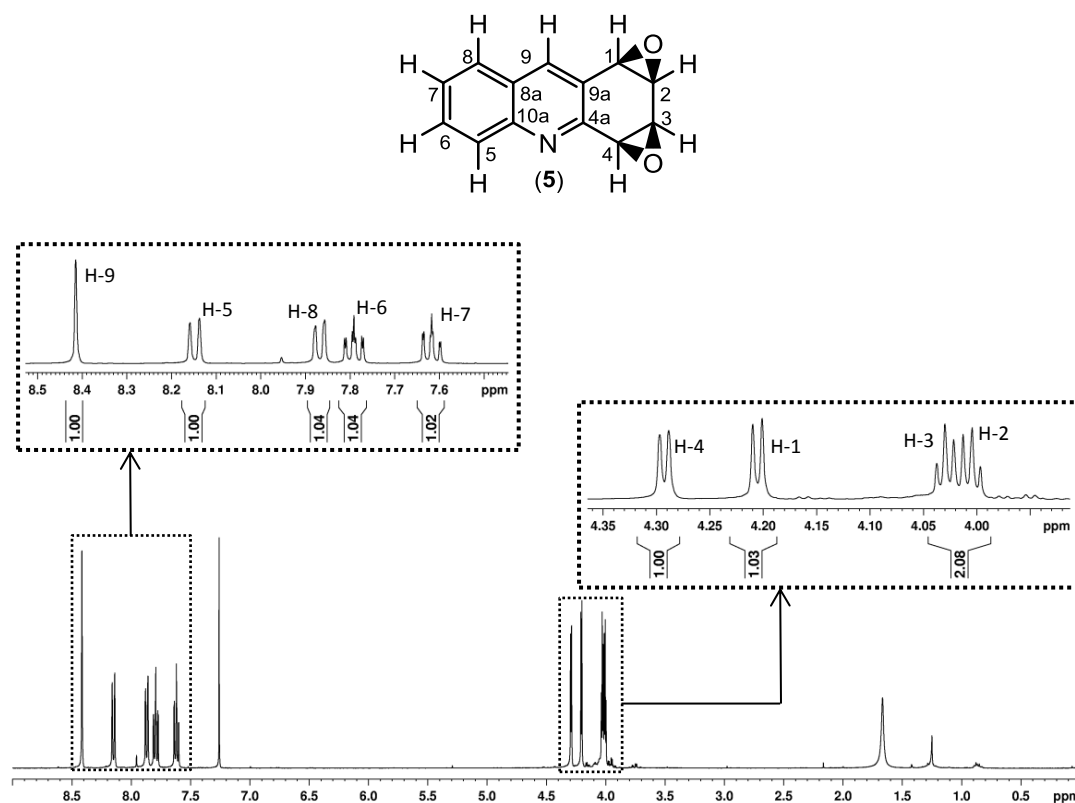


Fig. 3.27 – Espectro de RMN de ¹H da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (5).

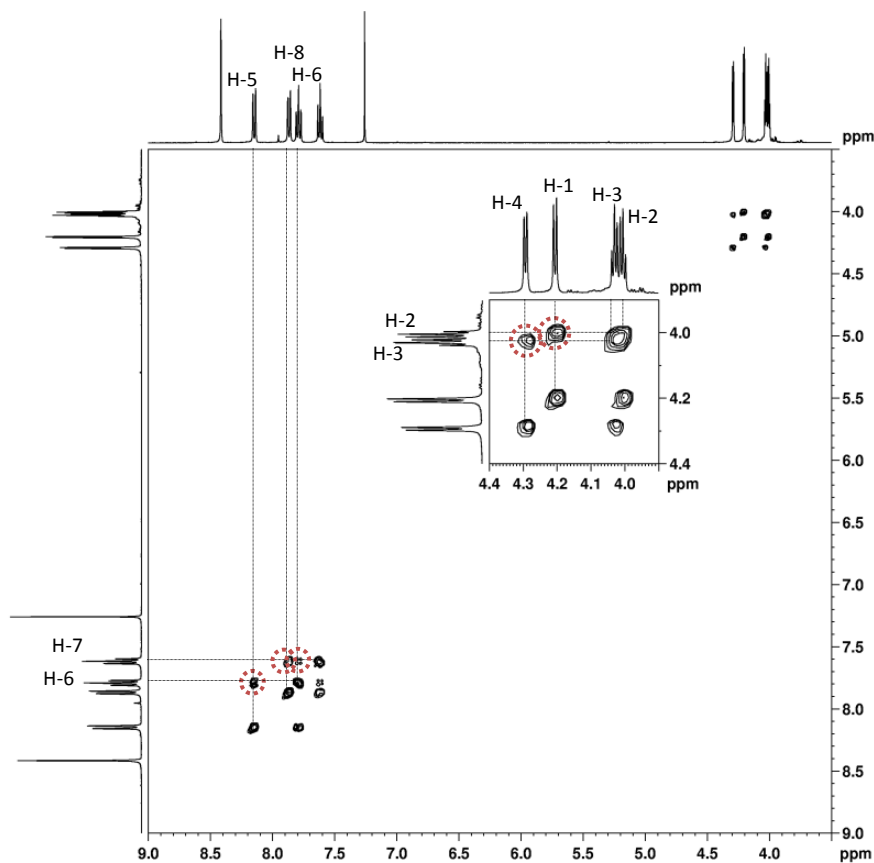


Fig. 3.28 – Espectro de COSY da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (5).

O espectro de COSY do composto **5**, apresentado na figura 3.28, permitiu identificar as seguintes correlações ^1H - ^1H :

- O H-2, a δ 4,01 ppm, correlaciona com o H-1 (δ 4,21 ppm) e com o H-3 (δ 4,03 ppm), que por sua vez correlaciona com o H-4, a δ 4,29 ppm;
- O H-6, a δ 7,79 ppm, correlaciona com o H-5 (δ 8,15 ppm) e com o H-7 (δ 7,62 ppm), que por sua vez correlaciona com o H-8, a δ 7,87 ppm.

O espectro de RMN de ^{13}C e a experiência APT da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**) encontram-se na figura 3.29. A partir destes dois espectros foi possível observar:

- Os treze sinais de todos os carbonos da molécula e identificar os 4 carbonos quaternários através da experiência APT;
- Pode-se também observar que os desvios obtidos para os prótons aromáticos são idênticos aos do composto **4**, enquanto se observam variações nos quatro carbonos da zona alifática.

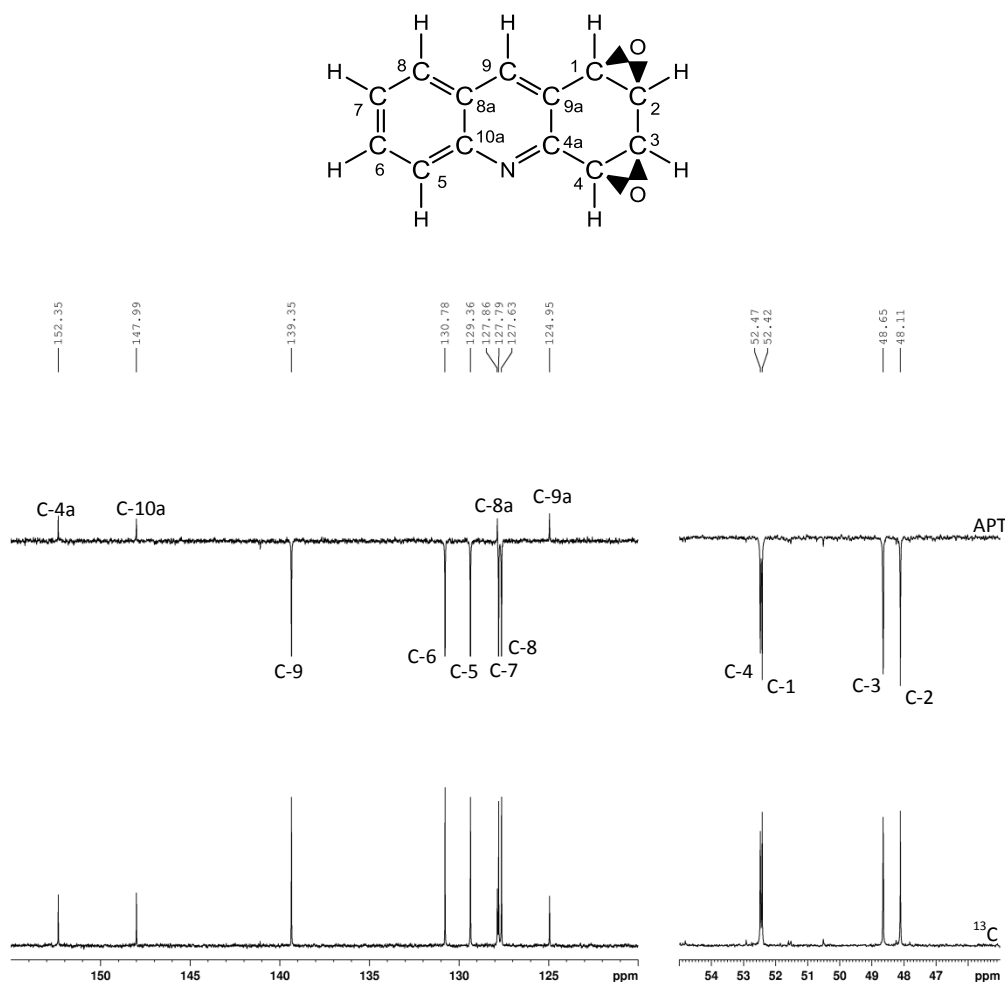


Fig. 3.29 – Espectro de RMN de ^{13}C da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**), juntamente com a experiência APT.

O estudo do espectro bidimensional HSQC, apresentado na figura 3.30, permitiu a identificação dos carbonos e prótons da molécula que estão diretamente ligados.

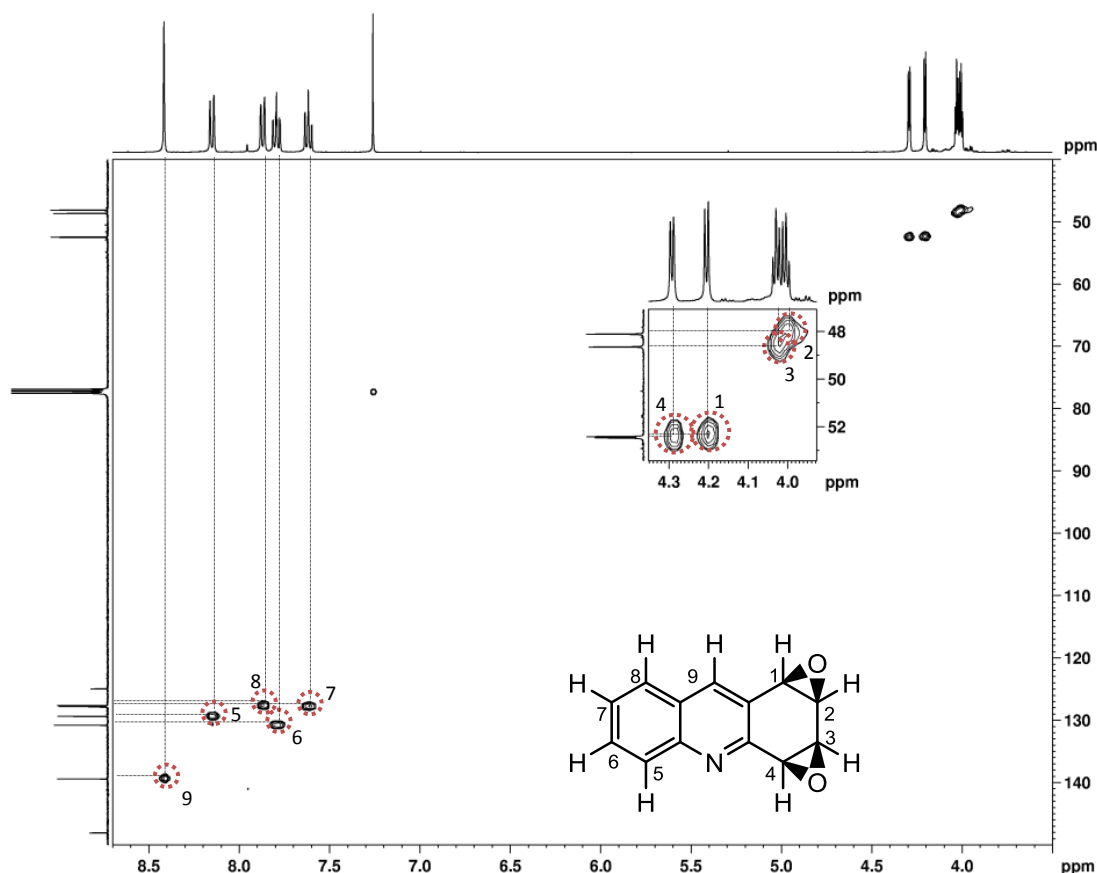


Fig. 3.30 – Espectro de HSQC da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (5).

O estudo do espectro de HMBC apresentado na figura 3.31 permitiu:

- A confirmação de que o sinal a δ 52,4 ppm corresponde ao C-1, corroborando a atribuição apresentada para os prótons e carbonos, uma vez que este espectro mostra uma correlação $^3J_{CH}$ entre o H-9 e o C-1;
- A identificação de todos os sinais correspondentes aos carbonos quaternários:
 - O carbono C-9a a δ 125,0 ppm, que correlaciona com fraca intensidade com o próton H-1;
 - O carbono C-8a a δ 127,9 ppm, que correlaciona com o próton H-5;
 - O carbono C-10a a δ 148,0 ppm, que correlaciona com o próton H-8 e com o próton H-9;
 - E o carbono C-4a a δ 152,4 ppm, que correlaciona fortemente com o próton H-9 (três ligações) e mais fracamente com o próton H-1 (duas ligações).

A distinção entre os carbonos C-9a e C-4a é também corroborada pelas atribuições dos compostos anteriores.

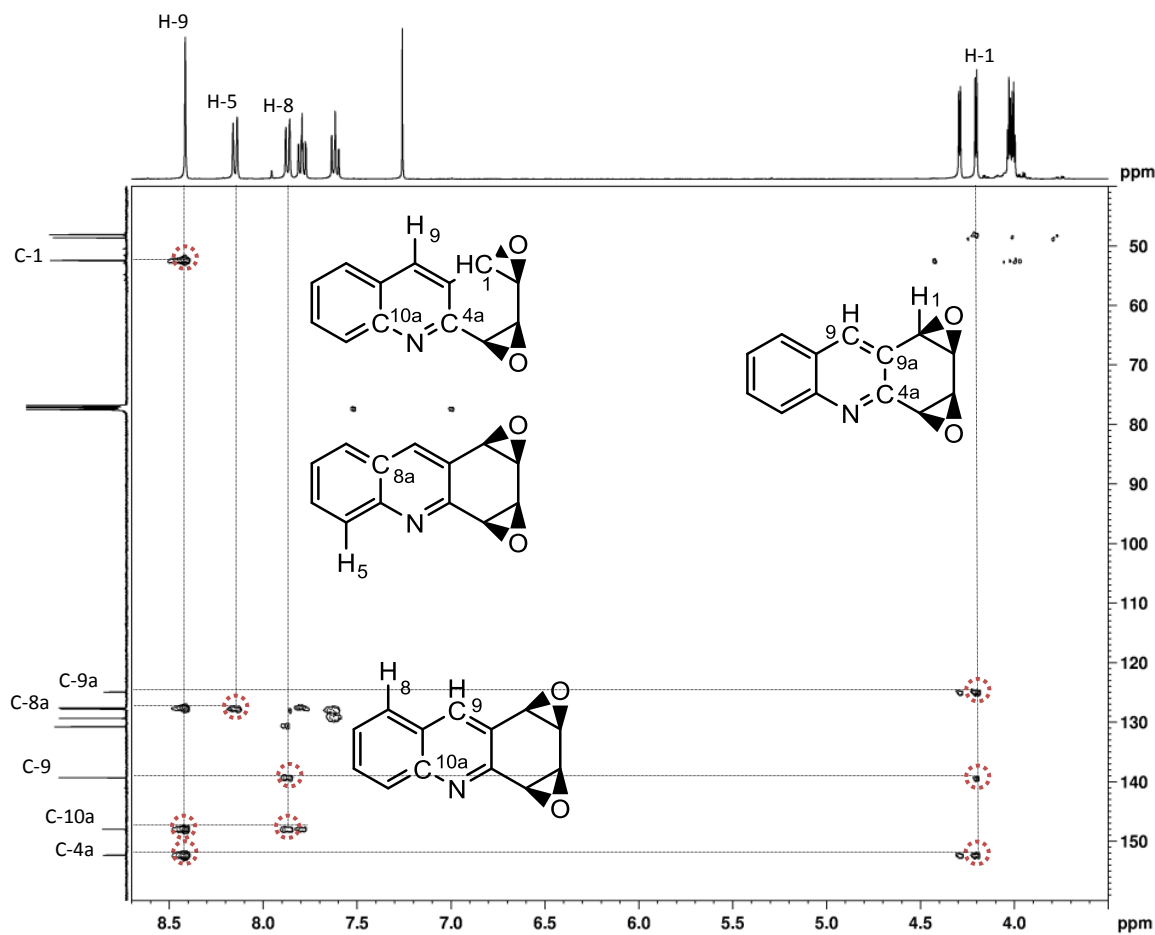


Fig. 3.31 – Espectro de HMBC da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (5).

Na tabela 3.3 estão apresentados os desvios químicos dos carbonos dos diepóxidos *anti* 4 e *sin* 5. É interessante verificar o deslocamento significativo dos sinais correspondentes aos carbonos C-2 e C-3, para menores frequências, passando do isómero *anti* 4 (δ 54,9 e 55,9 ppm) para o isómero *sin* 5 (δ 48,1 e 48,6 ppm), confirmando a sobreposição do efeito indutor já observada no espectro de ¹H, uma vez que, devido ao deslocamento da nuvem eletrônica, estes carbonos ficam mais protegidos enquanto os prótons H-1 e H-4 ficam mais desprotegidos.

Tabela 3.3 – Desvios químicos de RMN de ¹³C dos compostos *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4) e *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (5).

Carbonos	1	2	3	4	5	6	7	8	4a	10a	8a	9a	9
δ ¹³ C <i>anti</i> (4) (ppm)	51,7	54,9	55,9	54,1	129,4	130,7	127,9	127,6	152,1	147,9	127,5	127,4	139,2
δ ¹³ C <i>sin</i> (5) (ppm)	52,4	48,1	48,6	52,5	129,5	130,8	127,8	127,6	152,4	148,0	127,9	125,0	139,4

O espectro de massa da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**) está apresentado na figura 3.32, onde se pode observar um padrão de fragmentação muito semelhante à do isómero *anti* (**4**).

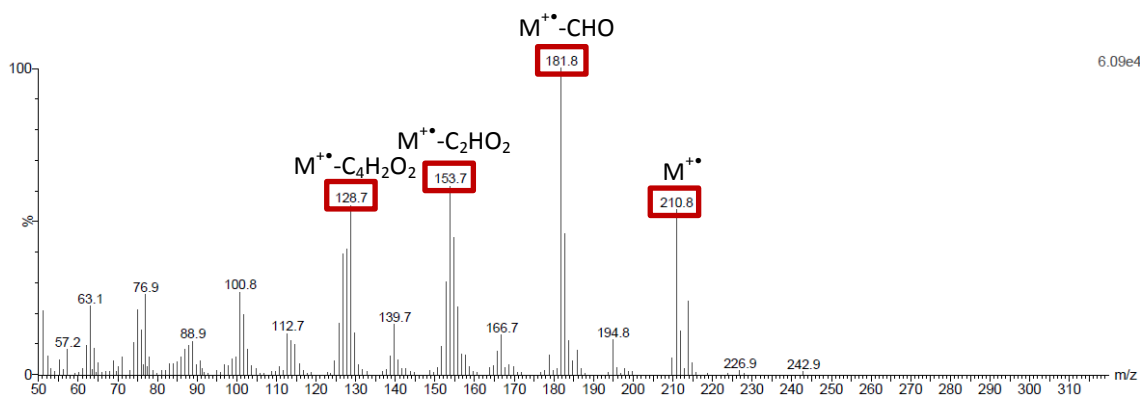
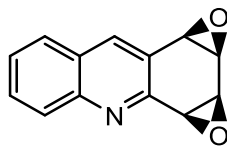


Fig. 3.32 – Espectro de massa da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**).

3.2.5 Caracterização da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**6**)

O espectro de RMN de ^1H da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**6**) está apresentado na figura 3.33, mostrando doze sinais correspondentes a 12 dos 13 prótons da molécula. O sinal do próton correspondente ao grupo hidroxilo não é visível devido à sua labilidade. A partir deste espectro foi possível tirar as seguintes conclusões:

- O singuleto correspondente ao próton H-9 é observado a δ 8,19 ppm, semelhante ao do composto **4** (isómero *anti*);
- O efeito desprotetor provocado pelo grupo carboxilo no próton H-1 leva a um deslocamento do sinal para desvios maiores em relação aos prótons H-2-4, sendo possível observá-lo a δ 6,10 ppm;
- O sinal do próton H-2 (a δ 4,65 ppm) mostra um maior desvio quando comparado com o equivalente nos compostos **4** e **5**, já que a abertura do epóxido levou à formação do grupo hidroxilo na posição 2, com maior efeito indutor desprotetor que o grupo epóxido devido à proximidade do grupo carboxilo.

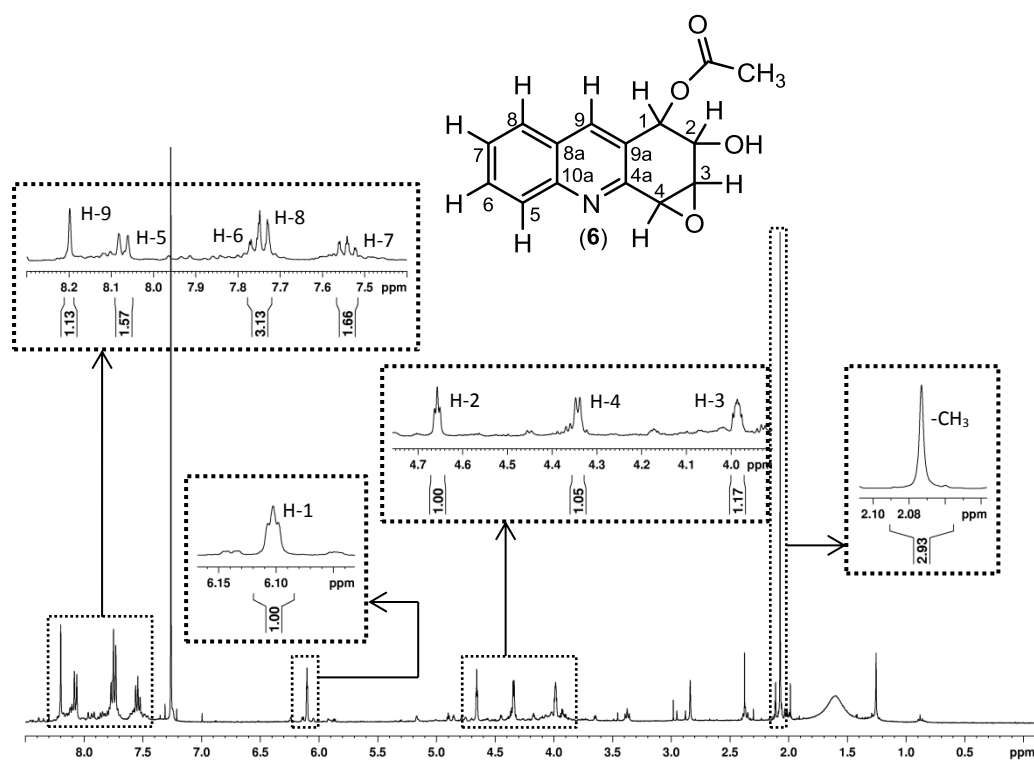


Fig. 3.33 – Espectro de RMN de ¹H da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).

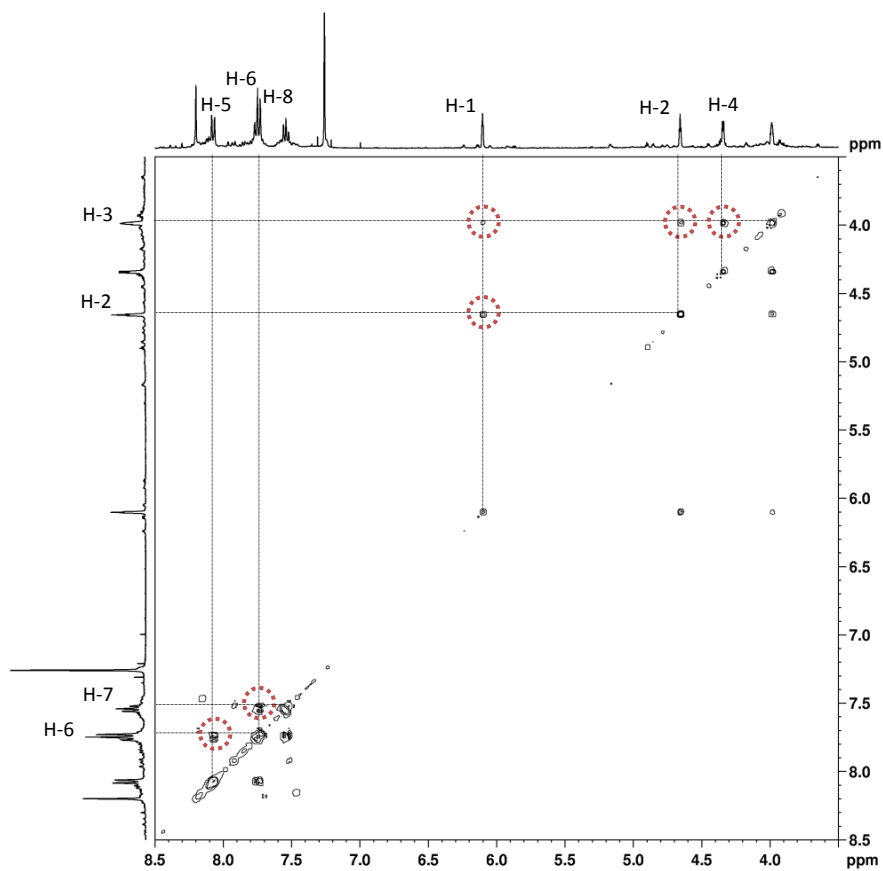


Fig. 3.34 – Espectro de COSY da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).

O estudo do espectro bidimensional COSY, apresentado na figura 3.34, revelou os seguintes acoplamentos ^1H - ^1H :

- O sinal a δ 3,99 ppm, correspondente ao próton H-3, acopla com três prótons: H-1, H-2 e H-4;
- O próton H-1 (δ 6,10 ppm) acopla com o H-2 (δ 4,65 ppm);
- Na zona aromática o próton H-7 (δ 7,54 ppm) acopla com o H-8 (δ 7,72 ppm) e/ou com o H-6 (δ 7,72 ppm), que por sua vez acopla com o H-5 (δ 8,06 ppm).

O espectro bidimensional NOESY desta molécula, apresentado na figura 3.35, confirma a abertura do epóxido na posição 1, uma vez que existe uma correlação entre o próton H-9 (δ 8,18 ppm) e o sinal a δ 6,10 ppm, evidenciando que este será relativo ao próton H-1.

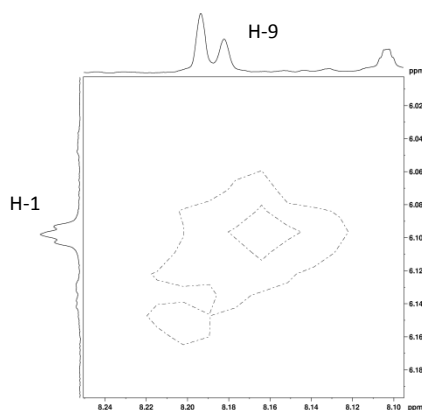


Fig. 3.35 – Expansão do espectro de NOESY da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**6**).

A figura 3.36 mostra o espectro de RMN de ^{13}C da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**6**) (contaminado com o composto **4**), bem como a experiência APT. A partir destes dois espectros foi possível observar:

- A presença de quinze sinais correspondentes aos carbonos da molécula;
- Cinco carbonos quaternários (distinguidos dos restantes pela experiência APT): o sinal a δ 170,8 ppm corresponde ao carbono do grupo acetoxi e os restantes quatro correspondem aos carbonos C-4a, C-10a, C-8a e C-9a;
- O sinal a δ 21,4 ppm corresponde ao $-\underline{\text{C}}\text{H}_3$ do grupo acetoxi;
- Tal como no espectro de ^1H , os sinais correspondentes aos carbonos C-1 e C-2 apresentam um maior desvio em relação aos carbonos C-3 e C-4 devido à proximidade dos grupos carboxilo e hidroxilo.

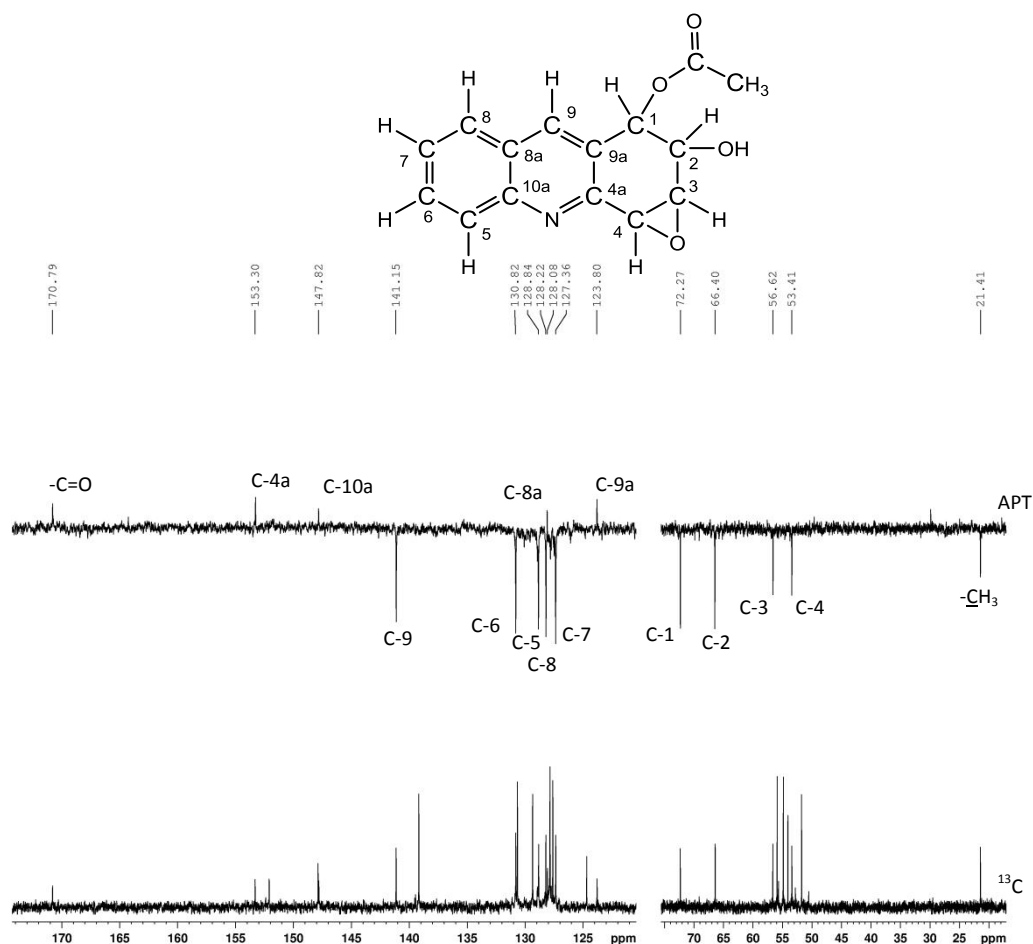


Fig. 36 – Espectro de RMN de ^{13}C da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6), juntamente com a experiência APT.

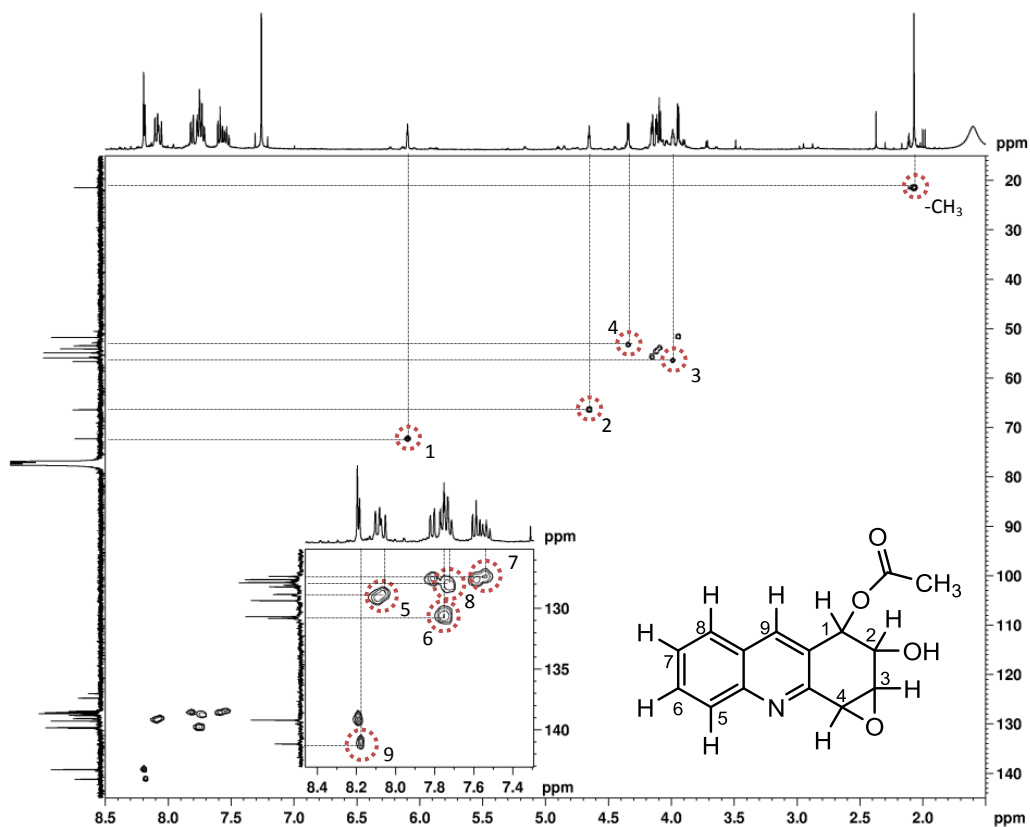


Fig. 3.37 – Espectro de HSQC da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).

A partir do estudo do espectro bidimensional HSQC, apresentado na figura 3.37, foi possível obter a correlação de acoplamento heteronuclear através de uma ligação ^1H - ^{13}C ($^1J_{\text{CH}}$).

O estudo do espectro bidimensional HMBC, apresentado na figura 3.38, permitiu:

- A confirmação de que o sinal a δ 72,3 ppm corresponde ao C-1, corroborando a atribuição dos prótons e dos carbonos com os desvios, uma vez que este espectro mostra uma correlação $^3J_{\text{CH}}$ entre o H-9 e o C-1;
- A identificação de todos os sinais correspondentes aos carbonos quaternários:
 - O carbono C-9a a δ 125,0 ppm, que correlaciona com o próton H-4;
 - O carbono C-8a a δ 127,9 ppm, que correlaciona com o próton H-5;
 - O carbono C-10a a δ 148,0 ppm, que correlaciona com o próton H-8 e com o próton H-9;
 - E o carbono C-4a a δ 152,4 ppm, que correlaciona com o próton H-9.

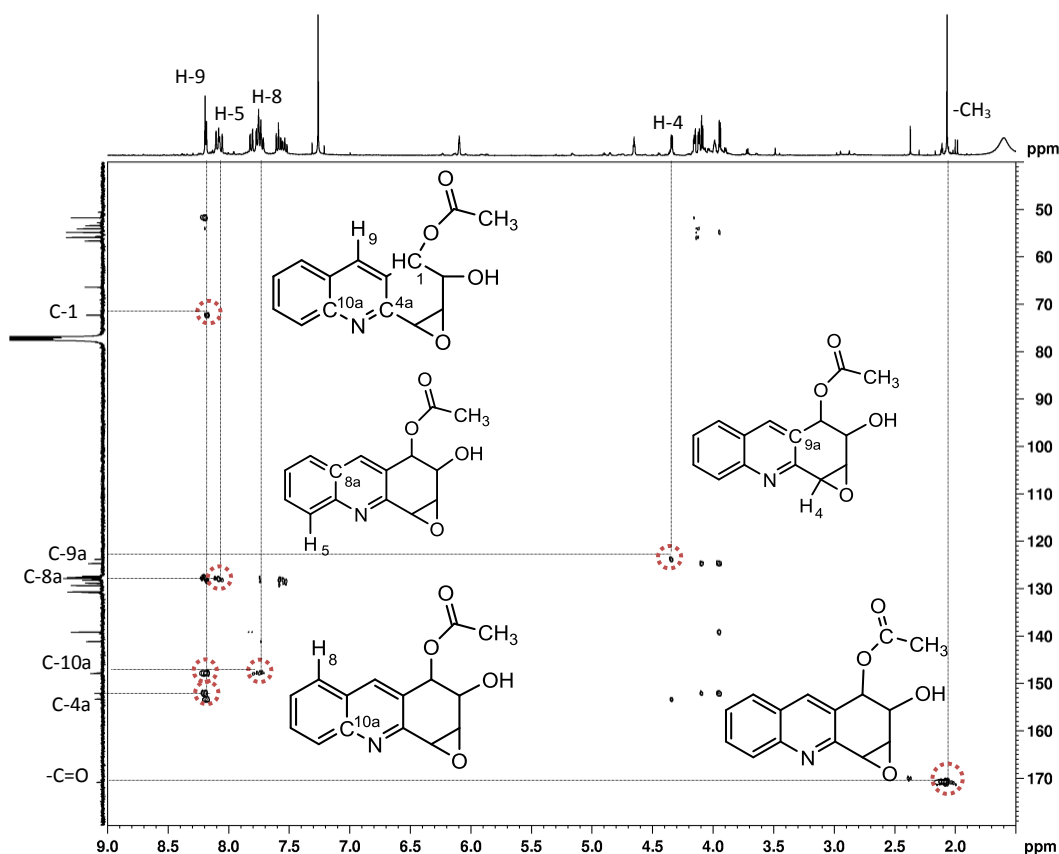
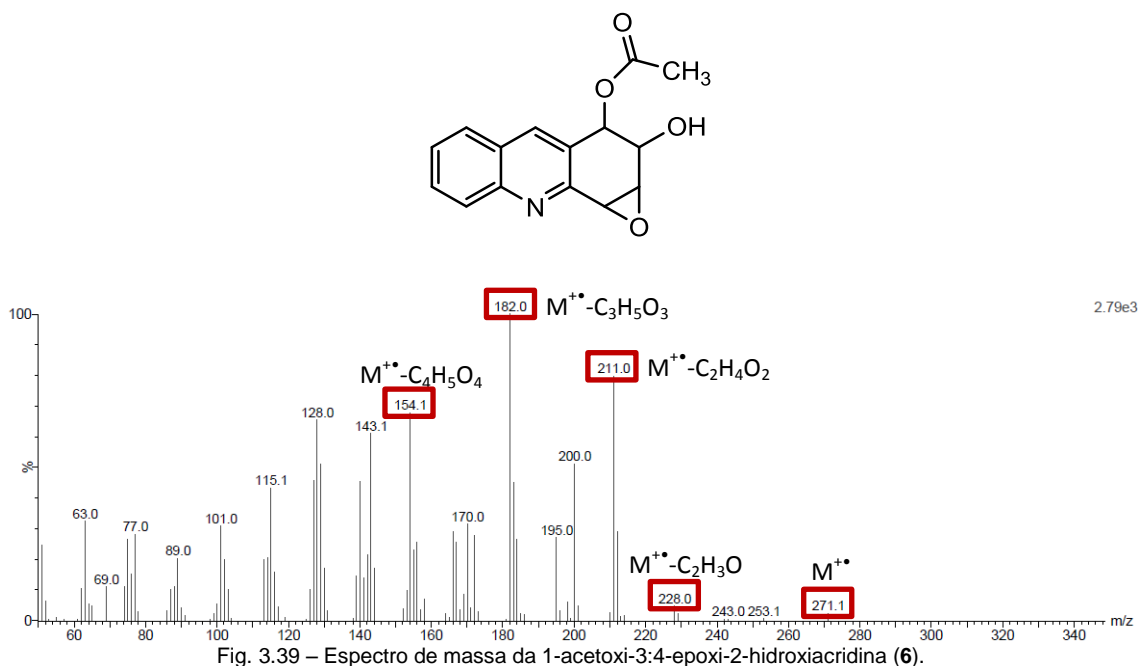


Fig. 3.38 – Espectro de HMBC da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (6).

O espectro de massa da 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**6**) está apresentado na figura 3.39. Neste espectro está identificado o pico do ião molecular (M^{+}) com m/z = 271, de baixa intensidade devido à sua fácil fragmentação perdendo o fragmento CH_3COOH ou o fragmento CH_3CO . Estão também identificadas as outras sucessivas perdas mais importantes, correspondentes aos fragmentos de CHO e C_2H_4 , que corroboram a sua estrutura.



3.2.6 Caracterização da 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**7**)

O espectro de RMN de 1H do composto 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**7**) está apresentado na figura 3.40, mostrando nove sinais correspondentes a nove prótons da molécula. O próton do grupo hidroxilo não é observável devido à sua labilidade, enquanto os prótons do grupo amónio são observáveis num sinal muito largo e de baixa intensidade (a $\delta \sim 3$ ppm), também devido à sua labilidade. A partir deste espectro foi possível tirar as seguintes conclusões:

- O singuleto a δ 8,14 ppm corresponde ao próton H-9;
- Os restantes sinais da zona aromática correspondem aos prótons H-5, H-6, H-7 e H-8, à semelhança dos compostos anteriores;
- Na zona alifática do espectro encontram-se os restantes sinais correspondentes aos prótons H-1-4. Os sinais dos prótons H-1 e H-2 encontram-se sobrepostos a δ 4,75 ppm, tendo um desvio maior em relação aos sinais que correspondem aos prótons H-3 e H-4.

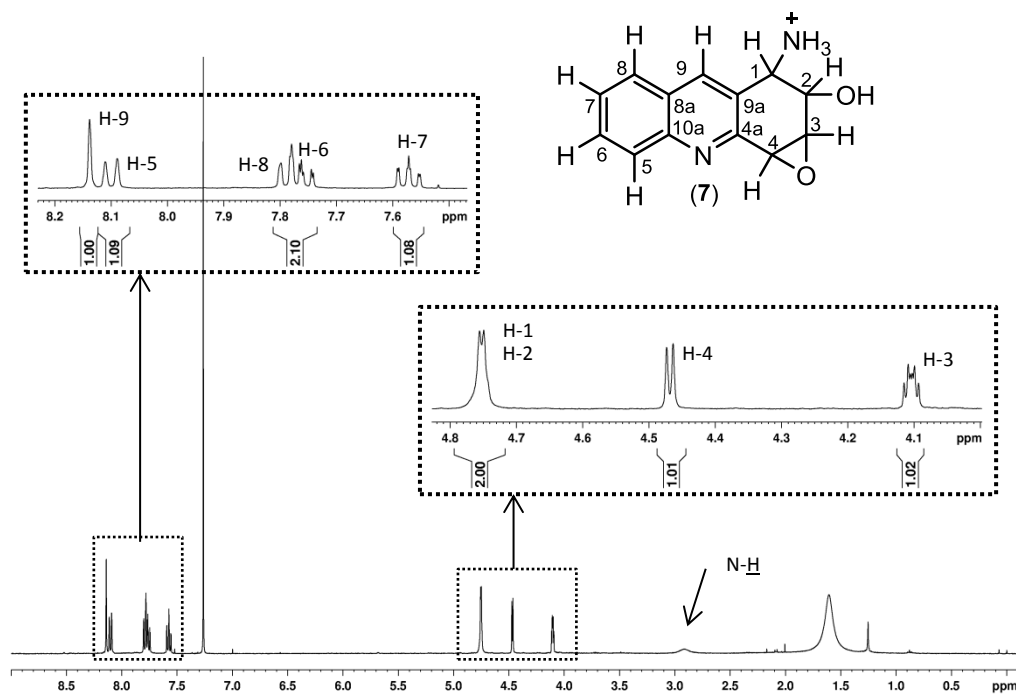


Fig. 3.40 – Espectro de RMN de ^1H da 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).

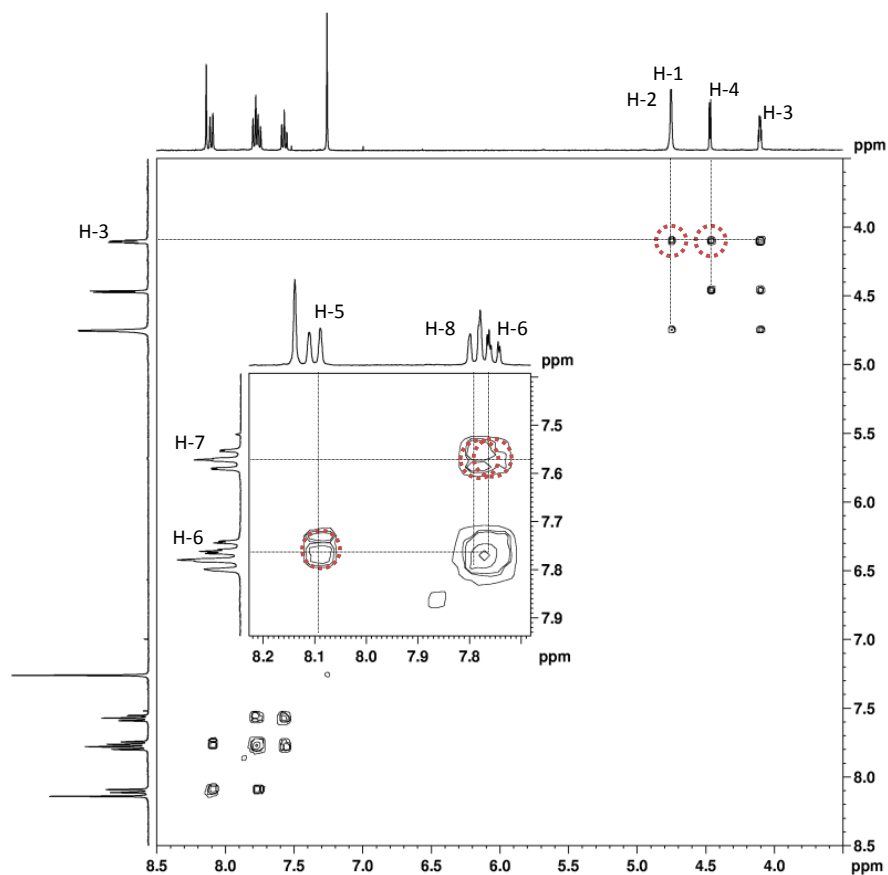


Fig. 3.41 – Espectro de COSY da 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).

O estudo do espectro bidimensional COSY (figura 3.41) permitiu observar as seguintes correlações ^1H - ^1H :

- O sinal do protão H-3, a δ 4,10 ppm acopla com H-2 e H-4. Como os sinais H-1 e H-2 se encontram sobrepostos não se exclui o acoplamento de H-3 com H-1, mas este seria de menor intensidade;
- O H-6, a δ 7,76 ppm, correlaciona com o H-5 (δ 8,10 ppm) e com o H-7 (δ 7,57 ppm), que por sua vez correlaciona com o H-8, a δ 7,79 ppm.

O espectro de RMN de ^{13}C do composto **7** encontra-se na figura 3.42, assim como a experiência APT. Nestes espectros são observáveis doze sinais de carbonos, correspondentes a doze dos treze carbonos da molécula. A partir destes dois espectros foi possível observar:

- Cinco sinais de carbonos correspondentes aos cinco $-\text{CH}$ aromáticos e ainda três carbonos quaternários (C-4a, C-8a e C-9a), distinguidos pela experiência APT, sendo que o C-10a não foi detectado;
- Tendo por comparação o composto **6**, uma vez que ambos resultam da abertura do anel de epóxido nas posições 1:2, é mais uma vez notório o maior desvio dos sinais dos carbonos C-1 e C-2, em relação aos carbonos C-3 e C-4.

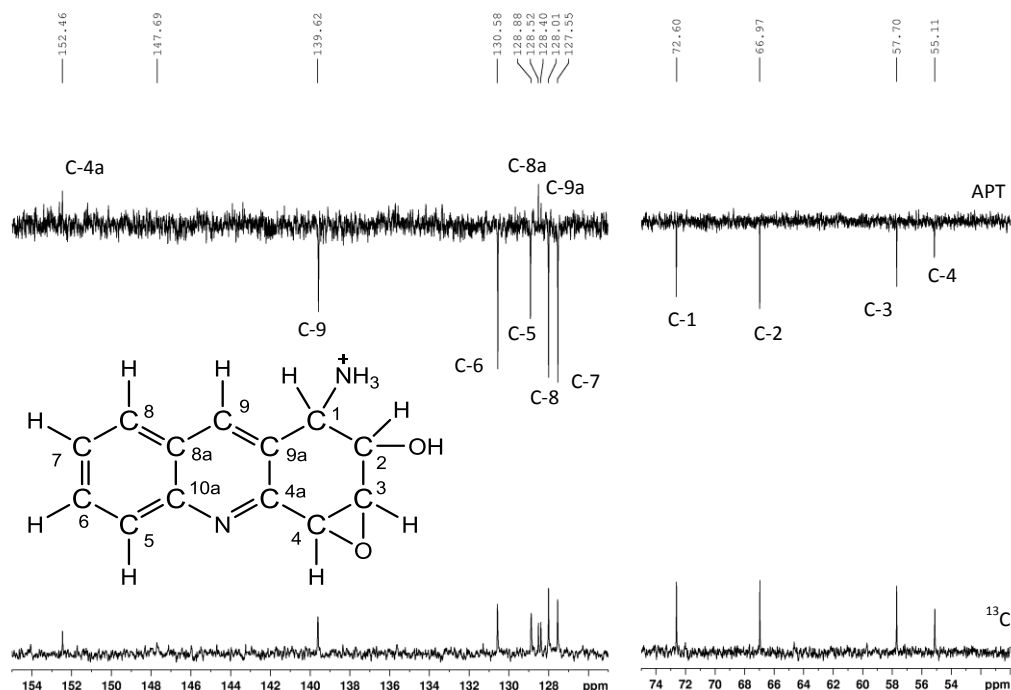


Fig. 3.42 – Espectro de RMN de ^{13}C da 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**7**), juntamente com a experiência APT.

A partir do estudo do espectro bidimensional HSQC, foi possível relacionar diretamente os prótons com os carbonos da molécula, como representado na figura 3.43.

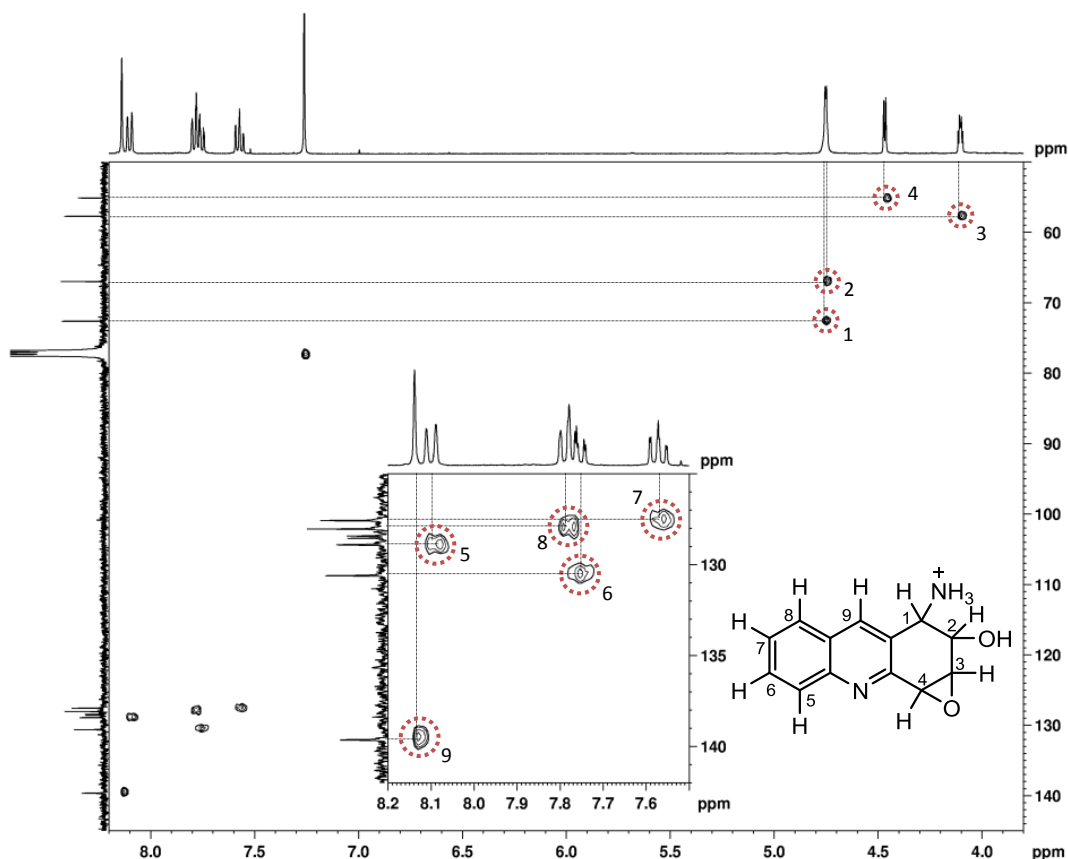


Fig. 3.43 – Espectro de HSQC da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).

O estudo do espectro bidimensional HMBC apresentado na figura 3.44 permitiu:

- A confirmação de que o sinal a δ 72,6 ppm corresponde ao C-1, corroborando a identificação dos prótons e dos carbonos com os desvios, uma vez que este espectro mostra uma correlação $^3J_{CH}$ entre o H-9 e o C-1;
- A identificação de todos os sinais correspondentes aos carbonos quaternários:
 - O carbono C-9a a δ 125,0 ppm, que correlaciona com o próton H-4;
 - O carbono C-8a a δ 127,9 ppm, que correlaciona com o próton H-5;
 - O carbono C-10a a δ 148,0 ppm, que apesar de não aparecer nos estudos de RMN de ^{13}C e na experiência de APT, é possível identificá-lo no espectro HMBC por ter uma correlação $^3J_{CH}$ com o próton H-8 e com o próton H-9;
 - E o carbono C-4a a δ 152,4 ppm, que correlaciona com o próton H-1 e H-9.

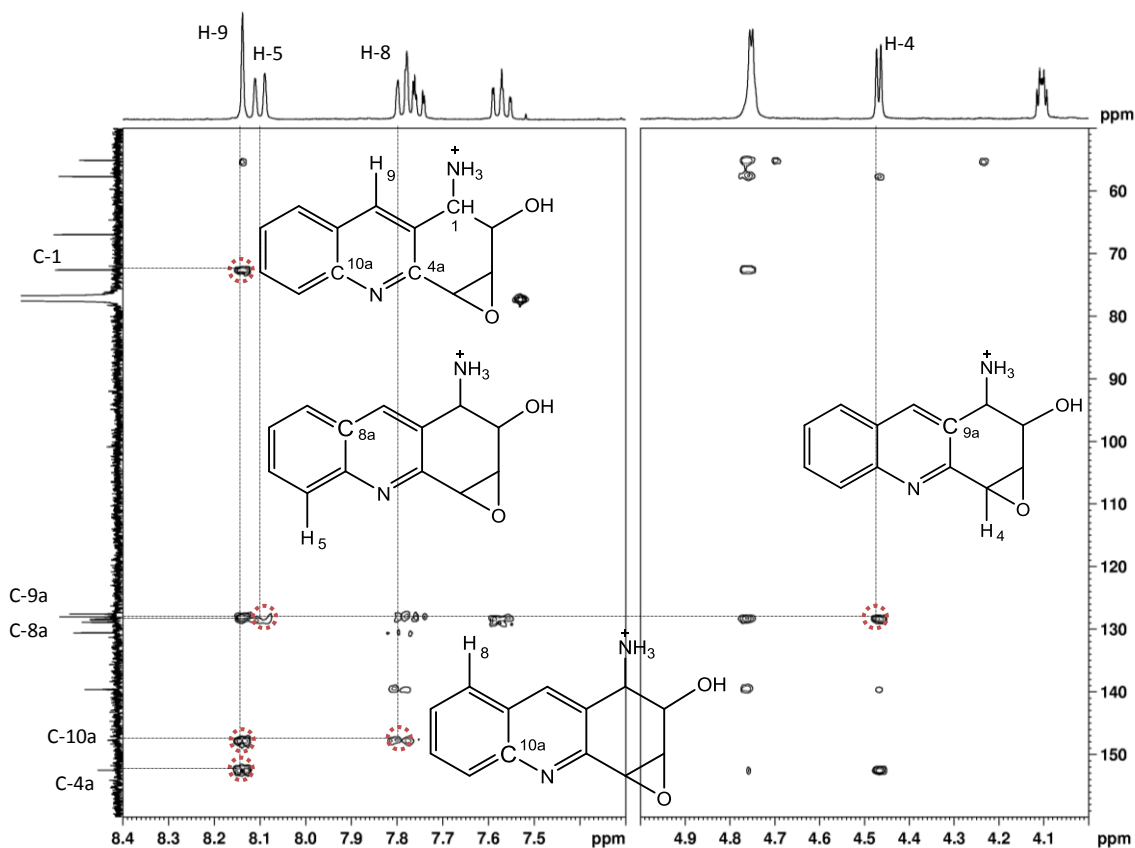


Fig. 3.44 – Espectro de HMBC da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).

O espectro de massa do composto 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7) está apresentado na figura 3.45. Neste espectro está identificado o pico do ião molecular ($M^{+•}$) com $m/z = 229$. Estão também identificados outros três picos correspondentes a duas perdas sucessivas de fragmentos, de CNH_3 e OH_2 , que corroboram a sua estrutura.

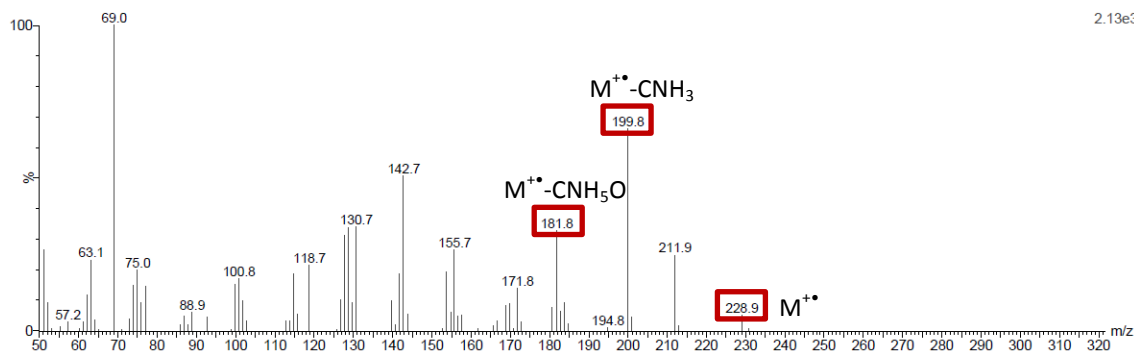


Fig. 3.45 – Espectro de massa da 1-amônio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (7).

3.2.7 Caracterização dos compostos *anti,anti*-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina (**8a**) e (**8b**)

Neste trabalho foram identificados dois isómeros do composto *anti,anti*-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina: as moléculas **8a** e **8b** representadas na figura 3.46. A confirmação da diastereoisomeria destes compostos será aprofundada no capítulo IV, onde se confirmou que não se tratavam de isómeros *sin,anti* ou *sin,sin*.

O espectro de RMN de ^1H e o espectro de massa de uma mistura destes dois diastereoisómeros estão apresentados na figura 3.46 e na figura 3.47, respetivamente. O espectro de RMN de ^1H mostra:

- Um singuleto a δ 7,76 ppm que corresponde ao H-9 do isómero **8a**, e um singuleto a δ 7,75 ppm que corresponde ao H-9 do isómero **8b**;
- Devido à simetria das moléculas, e tal como no caso da acridina, cada sinal na zona alifática corresponde a dois prótons:
 - Os sinais dos prótons H-2 e H-7 e dos prótons H-3 e H-6 dos dois isómeros encontram-se sobrepostos, sendo observáveis como dois multipletos entre δ 4,03 e 4,09 ppm;
 - Os sinais dos prótons H-1 e H-8 do isómero **8a** são observáveis como um duplo duplete a δ 3,71 ppm, a um menor desvio químico que os mesmos prótons do isómero **8b**, a δ 3,72 ppm. O mesmo acontece para os prótons H-4 e H-5, que são observados como dupletos a δ 3,89 ppm e a δ 3,90 ppm, respetivamente para os compostos **8a** e **8b**.

A distinção e identificação destes dois isómeros foi baseada nas diferenças no espectro de ^1H previamente referidas, assim como nos rendimentos obtidos para os dois isómeros.

Atendendo aos desvios químicos observados para os prótons H-1 e H-8, o facto do composto **8a** ter desvios a menores frequências que o composto **8b** pode ser justificado pelo efeito indutor e anisotrópico proporcionado pelo facto dos epóxidos nas posições 1:2 e 7:8 se encontrarem em faces opostas ou na mesma face, o que pode ocasionar respetivamente um atenuamento ou reforço desse mesmo efeito indutor, à semelhança do que foi observado no isómero *sin* (**5**) relativamente ao isómero *anti* (**4**), embora neste caso com menor intensidade.

Deste modo, pode-se justificar o facto dos prótons H-1 e H-8 estarem mais desprotegidos no isómero **8b** que no isómero **8a**, o mesmo acontecendo para os prótons H-4 e H-5.

Por outro lado, é esperável que o composto **8a** seja obtido com maior rendimento, uma vez que este isómero pode ser obtido como dois enantiómeros, aumentando a

probabilidade da sua formação relativamente ao isómero **8b**, onde apenas um isómero pode ser formado.

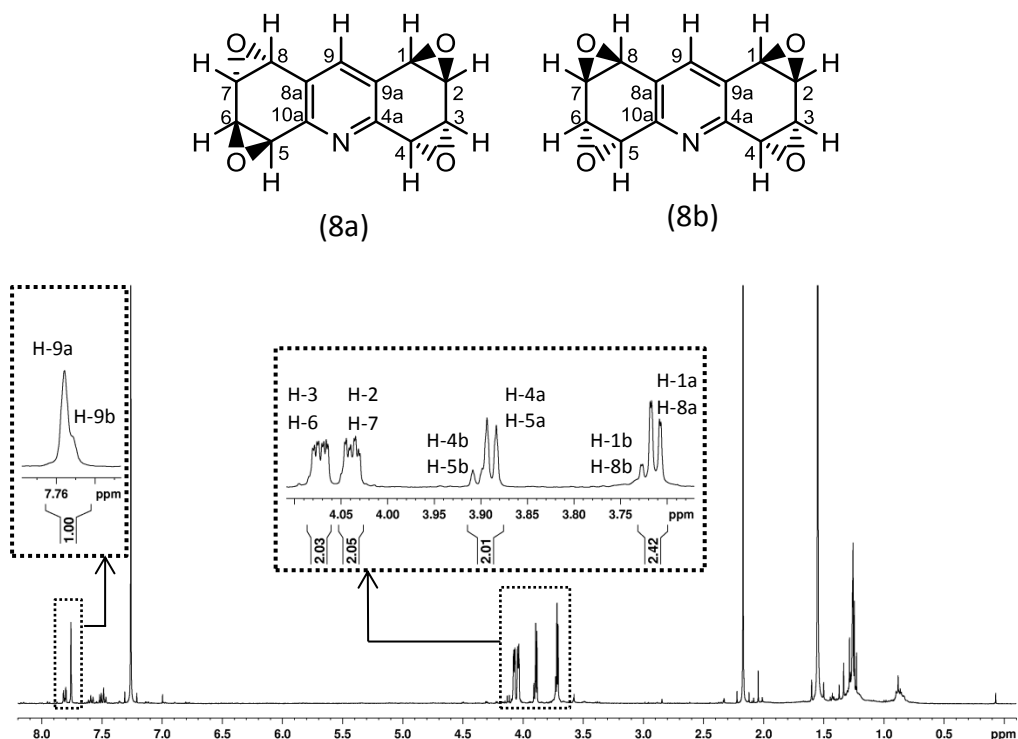


Fig. 3.46 – Espectro de RMN de ¹H da mistura de isómeros *anti,anti*-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina (**8a**) e (**8b**).

O espectro de massa da *anti,anti*-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina (**8a**) e (**8b**) está apresentado na figura 3.47. Neste espectro está identificado o pico do ião molecular (M⁺) com $m/z = 243$. Estão também identificados outros quatro picos correspondentes à perda do fragmento CHO, seguida de três sucessivas perdas de CO, que corroboram a estrutura.

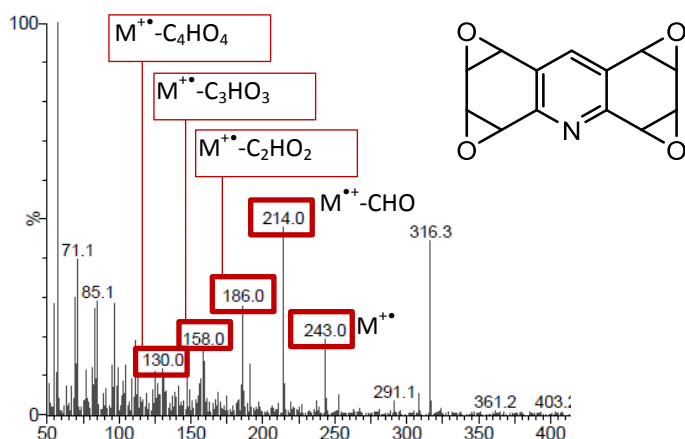


Fig. 3.47 – Espectro de massa da mistura de isómeros *anti,anti*-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina (**8a**) e (**8b**).

3.2.8 Caracterização da 1-(4'-etilfenilamino)-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (9)

O composto 1-(4'-etilfenilamino)-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (9), obtido pela reação de abertura do epóxido, está apresentado na figura 3.48. A sua estrutura foi confirmada por RMN de ^1H , ^{13}C , COSY, HSQC, HMBC, NOESY, e APT. O processo de identificação e atribuição dos sinais dos prótons e dos carbonos foi corroborado pela comparação com os espectros de RMN dos compostos 6 e 7.

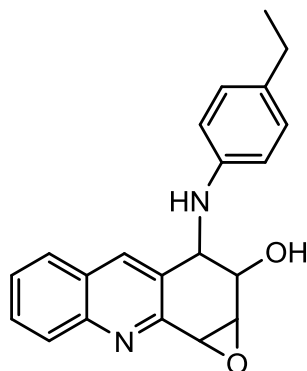


Fig. 3.48 – Estrutura do composto 1-(4'-etilfenilamino)-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (9).

Capítulo IV

Estudos Teóricos Computacionais

Capítulo IV – Estudos Teóricos Computacionais

Os estudos teóricos são um importante complemento aos resultados experimentais na compreensão das propriedades físico-químicas de novos compostos. No presente capítulo encontram-se descritos os estudos realizados, aplicando modelos teóricos, na confirmação das estruturas de novos derivados e na compreensão das reatividades observadas.

Os estudos teóricos computacionais foram realizados usando o método da teoria do funcional da densidade (DFT) para obtenção de estruturas eletronicamente estáveis e para simulação de espectros de RMN de ^1H . Este método foi também utilizado na determinação de superfícies de isodensidade eletrônica mapeadas com o potencial eletrostático, o que permite relacionar a estrutura molecular com a reatividade de posições específicas.

4.1 Confirmação estrutural

Nestes estudos começou-se por estudar as conformações das moléculas que correspondem a mínimos da superfície de energia potencial e, posteriormente, foram calculados os desvios químicos teóricos no RMN de ^1H . O método de DFT é um método de cálculo que se baseia em funcionais da densidade eletrônica. Vários funcionais foram desenvolvidos para aplicação neste método, e neste trabalho foi utilizado o funcional híbrido B3LYP, que combina o funcional de três parâmetros de Becke para a energia de permuta com o funcional de Lee, Yang, and Parr para a energia de correlação eletrônica^[80].

Os cálculos foram efetuados com o programa Gaussian 09^[81], simulando-se o efeito do solvente clorofórmio com um método de contínuo polarizável, IEF-PCM^[82].

4.1.1 A molécula de acridina (1) como referência

Inicialmente foi realizado um estudo comparativo entre os valores teóricos e experimentais obtidos para os desvios químicos δ no espectro de RMN de ^1H da acridina, usada como composto de referência. Foi determinado o erro médio absoluto, expresso por $|\overline{\Delta\delta}|$ que foi calculado através da fórmula:

$$|\overline{\Delta\delta}| = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |\delta_{\text{teórico}} - \delta_{\text{experimental}}|$$

Depois calculou-se o desvio absoluto médio \overline{D} através da fórmula:

$$\overline{D} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n ||\Delta\delta_i| - |\overline{\Delta\delta}||$$

O valor de \overline{D} obtido para os desvios químicos do RMN de ^1H da acridina foi o valor de referência usado nos estudos posteriores para retirar conclusões confiáveis a partir da comparação entre os valores experimentais e os valores teóricos.

A molécula de acridina (**1**) na conformação de menor energia é apresentada na figura 4.1. Na tabela 4.1 estão apresentados os valores de desvio químico dos prótons nos espectros de RMN de ^1H obtidos experimentalmente e os valores obtidos teoricamente, assim como o erro médio absoluto $|\overline{\Delta\delta}|$ e o desvio médio \overline{D} , que neste caso apresentou um valor de 0,03.

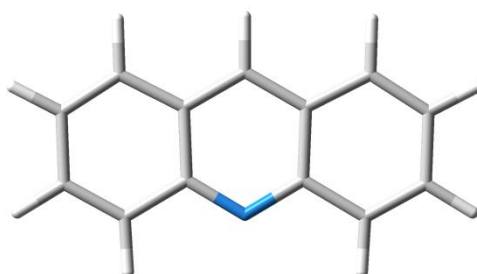


Fig. 4.1 – Estrutura da acridina (**1**) na conformação de menor energia.

Tabela 4.1 – Comparação entre os valores de δ de RMN de ^1H experimentais e teóricos da acridina (**1**).

H	δ exp (ppm)	δ teórico (ppm)	$ \Delta\delta $
1	8,00	8,28	0,28
2	7,54	7,78	0,24
3	7,79	8,04	0,25
4	8,25	8,45	0,20
5	8,25	8,45	0,20
6	7,79	8,04	0,25
7	7,54	7,78	0,24
8	8,00	8,28	0,28
9	8,77	8,95	0,18
$ \overline{\Delta\delta} $			0,23(6)
\overline{D}			0,03

δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

4.1.2 Confirmação da estrutura da 1:2-epoxiacridina (**2**)

A mono-epoxiacridina pode encontrar-se em várias formas isoméricas, nomeadamente os dois isómeros posicionais, 1:2-epoxiacridina (**2**) e 3:4-epoxiacridina (**2a**) (figura 4.2).

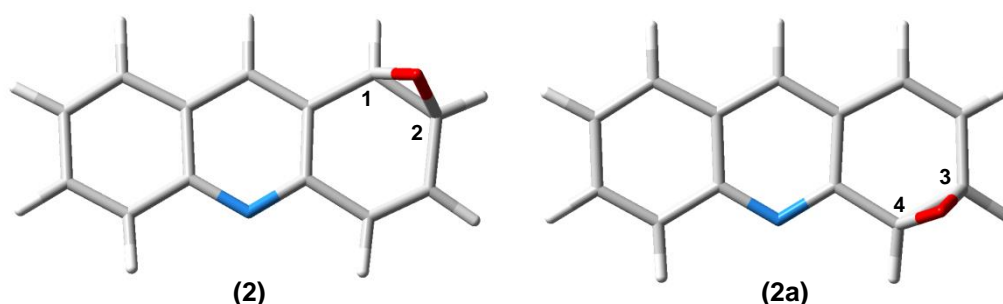


Fig. 4.2 – Estrutura 3D das moléculas 1:2-epoxiacridina (**2**) e 3:4-epoxiacridina (**2a**).

Cada um destes isómeros poderá encontrar-se em duas formas enantioméricas, em que o epóxido se encontra na face superior ou inferior do anel. Após a obtenção da conformação de menor energia para os quatro compostos, verificou-se que o anel funcionalizado se encontra praticamente no mesmo plano dos anéis aromáticos em todos os compostos que também possuem a mesma energia mínima (figura 4.3).



Fig. 4.3 – Representação 3D dos dois enantiómeros da 1:2-epoxiacridina (**2**).

Desta forma, seria esperado que os dois enantiómeros do mesmo isómero posicional não introduzissem uma variação significativa no espectro de RMN de ^1H teórico.

Posteriormente obtiveram-se os desvios químicos de RMN de ^1H teóricos para as moléculas **2** e **2a**, que se encontram apresentados na tabela 4.2 em comparação com os valores obtidos experimentalmente para a 1:2-epoxiacridina (**2**). Para se poderem comparar os valores, a numeração do anel funcionalizado da 3:4-epoxiacridina (**2a**) encontra-se invertida.

Comparando os valores obtidos experimentalmente com os teóricos, chegou-se ao valor de desvio médio \bar{D} de 0,04 para o caso da molécula **2** e de 0,07 no caso da molécula **2a**. Estes valores confirmam a estrutura obtida pelos estudos de RMN, resta no entanto explicar a obtenção apenas deste monoepóxido, provavelmente na forma de dois enantiómeros, e a não obtenção do seu isómero posicional **2a**. Este ponto será retomado na seção 4.2.1, através de estudos de potencial eletrostático.

Tabela 4.2 - Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais da 1:2-epoxiacridina (**2**) com os valores teóricos da mesma molécula e da 3:4-epoxiacridina (**2a**).

H	δ 2 exp (ppm)	δ 2 teórico (ppm)	$ \Delta _2$	δ 2a teórico (ppm) ^a	$ \Delta _{2a}$
1	4,62	4,48	0,14	7,07	0,06
2	4,15	3,99	0,16	6,75	0,10
3	6,85	7,06	0,21	4,04	0,11
4	7,01	7,25	0,24	4,58	0,04
5	8,09	8,26	0,17	8,32	0,23
6	7,74	7,95	0,21	7,95	0,21
7	7,56	7,77	0,21	7,78	0,22
8	7,85	8,08	0,23	8,08	0,23
9	8,36	8,48	0,12	8,14	0,22
$ \Delta\delta $			0,18(8)	0,15(8)	
\bar{D}			0,04	0,07	

^aPara comparação direta dos valores dos prótons H-1-4 do composto **2a** com os mesmos do composto **2**, foi necessário inverter a sua numeração: δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

4.1.3 Confirmação da estrutura da 4-hidroxiacridina (**3**)

Dos quatro isómeros possíveis para a mono-hidroxiacridina apenas os isómeros 4-hidroxiacridina (**3**) e 1-hidroxiacridina (**3a**) foram estudados (figura 4.4). Atendendo aos resultados obtidos nos estudos de RMN, o grupo hidroxilo apenas poderia estar nas posições 1 ou 4.

Os desvios químicos de RMN de ^1H teóricos obtidos para os compostos **3** e **3a** encontram-se na tabela 4.3 e os mesmos foram comparados com os desvios químicos obtidos experimentalmente para a 4-hidroxiacridina (**3**). Comparando os valores, obteve-se um valor de \bar{D} de 0,06 para a molécula **3** e de 0,10 para a molécula **3a**. Estes resultados confirmam os estudos de RMN, indicando que foi obtida a molécula 4-hidroxiacridina (**3**). Tal como no caso do monoepóxido, resta explicar a razão pela qual apenas este isómero foi obtido. Esta questão será abordada na secção 4.2.1.

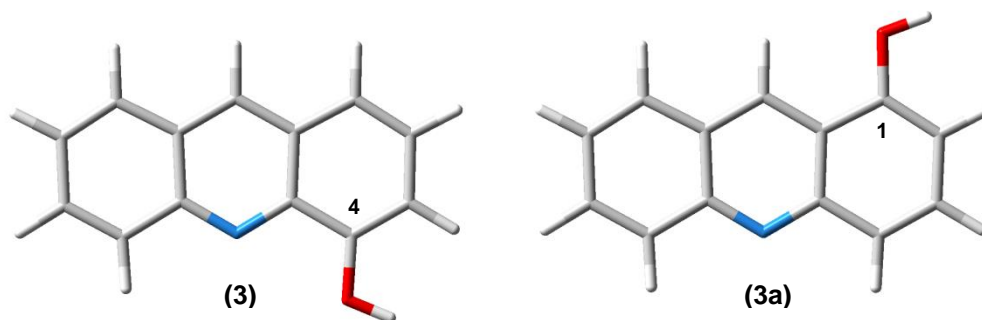


Fig. 4.4 – Estrutura 3D das moléculas 4-hidroxiacridina (3) e 1-hidroxiacridina (3a).

Tabela 4.3 - Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais da 4-hidroxiacridina (3) com os valores teóricos da mesma molécula e da 1-hidroxiacridina (3a).

H	δ 3 exp (ppm)	δ 3 teórico (ppm)	$ \Delta _3$	δ 3a teórico (ppm) ^a	$ \Delta _{3a}$
1	7,53	7,71	0,18	6,84	0,36
2	7,46	7,55	0,09	7,79	0,33
3	7,20	7,09	0,11	7,88	0,35
5	8,22	8,48	0,26	8,37	0,15
6	7,79	7,99	0,20	8,02	0,23
7	7,56	7,78	0,22	7,75	0,19
8	8,03	8,23	0,20	8,30	0,27
9	8,77	8,83	0,06	9,37	0,60
$ \overline{\Delta\delta} $			0,16(5)	0,31(0)	
\overline{D}			0,06	0,10	

^aPara comparação direta dos valores dos prótons H-1-4 do composto 3a com os mesmos do composto 3, foi necessário inverter a sua numeração; δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

4.1.4 Atribuição das configurações *anti* e *sin* aos diastereoisómeros da diepoxiacridina

Para o estudo da estereoisomeria da molécula 1:2,3:4-diepoxiacridina realizaram-se estudos teóricos para os diastereoisómeros *anti* e *sin* (figura 4.5). Também nestes derivados as conformações de menor energia obtidas mostram que o anel funcionalizado com os dois grupos epóxido se encontra no mesmo plano dos anéis aromáticos, enquanto os anéis de epóxido estão acima ou abaixo deste plano.

Os valores dos desvios químicos teóricos obtidos foram comparados com os desvios químicos de RMN de ^1H experimentais do composto 4 e do composto 5, e os resultados encontram-se resumidos nas tabelas 4.4 e 4.5, respetivamente.

Os valores de \bar{D} obtidos pela comparação dos desvios químicos experimentais do composto **4** com os desvios teóricos dos dois isómeros foram de 0,04 no caso do diastereoisómero *anti* e de 0,10 no caso do *sin*, indicando que o composto **4** se trata da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina. Na comparação dos desvios químicos experimentais do composto **5** com os desvios teóricos dos dois isómeros, obtiveram-se valores de \bar{D} de 0,13 no caso do *anti* e de 0,03 no caso do *sin*, indicando que o composto **5** se trata da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina.

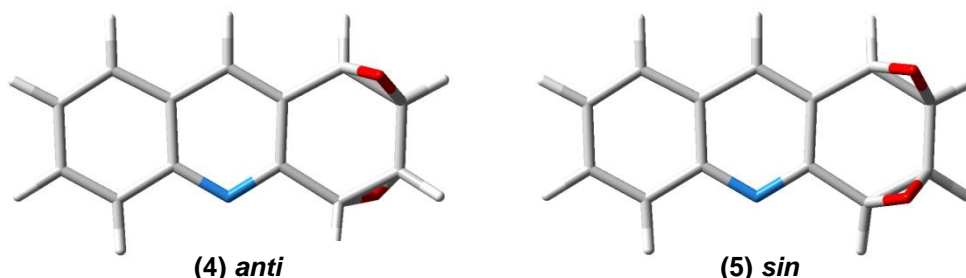


Fig. 4.5 – Estrutura 3D das moléculas *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**) e *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**).

Tabela 4.4 - Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**) com os valores teóricos da mesma molécula e do isómero *sin*.

H	δ 4 exp (ppm)	δ <i>anti</i> teórico (ppm)	$ \Delta _{anti}$	δ <i>sin</i> teórico (ppm)	$ \Delta _{sin}$
1	3,95	3,68	0,27	4,00	0,05
2	4,12	3,91	0,21	3,70	0,42
3	4,16	3,95	0,21	3,76	0,4
4	4,10	3,83	0,27	4,07	0,03
5	8,10	8,26	0,16	8,34	0,24
6	7,76	7,95	0,19	8,01	0,25
7	7,59	7,79	0,20	7,84	0,25
8	7,82	8,02	0,20	8,11	0,29
9	8,20	8,26	0,06	8,53	0,33
$ \overline{\Delta\delta} $			0,19(7)	0,25(1)	
\bar{D}			0,04	0,10	

δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

Tabela 4.5 - Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais da *sin*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**5**) com os valores teóricos da mesma molécula e do isómero *anti*.

H	δ 5 exp (ppm)	δ <i>anti</i> teórico (ppm)	$ \Delta _{anti}$	δ <i>sin</i> teórico (ppm)	$ \Delta _{sin}$
1	4,21	3,68	0,53	4,00	0,21
2	4,01	3,91	0,10	3,70	0,31
3	4,03	3,95	0,08	3,76	0,27
4	4,29	3,83	0,46	4,07	0,22
5	8,15	8,26	0,11	8,34	0,19
6	7,79	7,95	0,16	8,01	0,22
7	7,62	7,79	0,17	7,84	0,22
8	7,87	8,02	0,15	8,11	0,24
9	8,41	8,26	0,15	8,53	0,12
$ \overline{\Delta\delta} $			0,21(2)	0,22(2)	
\overline{D}			0,13	0,03	

δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

4.1.5 Atribuição da estereoquímica dos tetraepóxidos

O estudo mais complexo foi o da atribuição estereoquímica aos compostos **8a** e **8b**, que são dois estereoisómeros da 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina. Esta molécula apresenta 6 diastereoisómeros possíveis, no entanto, neste trabalho apenas dois destes foram obtidos, como descrito no capítulo III.

Dois isómeros *anti,anti* desta molécula, **aa1** e **aa2**, estão apresentados na figura 4.6. Nas tabelas 4.6 e 4.7 estão apresentados os valores de desvios químicos teóricos calculados para estes dois isómeros em comparação com os desvios químicos experimentais dos compostos **8a** e **8b**, respetivamente.

Comparando os valores de desvio químico obtidos experimentalmente para o composto **8a** com os valores obtidos teoricamente para os isómeros **aa1** e **aa2** (tabela 4.6), obteve-se o valor de \overline{D} de 0,05 para as duas moléculas.

No caso do composto **8b** (tabela 4.7), obteve-se um valor de \overline{D} de 0,06 para a comparação com os desvios químicos teóricos do isómero **aa1** e de 0,05 para a comparação com os do isómero **aa2**.

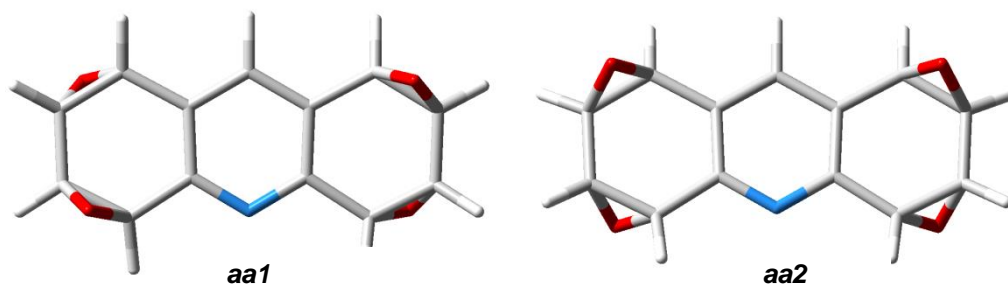


Fig. 4.6 – Estrutura 3D de dois isómeros *anti,anti* da molécula 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina, **aa1** e **aa2**.

Tabela 4.6 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto **8a** com os valores teóricos dos isómeros *anti,anti*, **aa1** e **aa2**.

H	δ 8a exp (ppm)	δ aa1 teórico (ppm)	$ \Delta _{aa1}$	δ aa2 teórico (ppm)	$ \Delta _{aa2}$
1	3,71	3,44	0,27	3,45	0,26
2	4,04	3,83	0,21	3,84	0,20
3	4,07	3,87	0,20	3,88	0,19
4	3,89	3,62	0,27	3,64	0,25
5	3,89	3,61	0,28	3,64	0,25
6	4,07	3,87	0,20	3,88	0,19
7	4,04	3,83	0,21	3,84	0,20
8	3,71	3,44	0,27	3,45	0,26
9	7,76	7,76	0	7,74	0,02
$ \overline{\Delta\delta} $			0,21(2)		0,20(2)
\overline{D}			0,05		0,05

δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

Tabela 4.7 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto **8b** com os valores teóricos dos isómeros *anti,anti*, **aa1** e **aa2**.

H	δ 8b exp (ppm)	δ aa1 teórico (ppm)	$ \Delta _{aa1}$	δ aa2 teórico (ppm)	$ \Delta _{aa2}$
1	3,72	3,44	0,28	3,45	0,27
2	4,04	3,83	0,21	3,84	0,20
3	4,07	3,87	0,20	3,88	0,19
4	3,90	3,62	0,28	3,64	0,26
5	3,90	3,61	0,29	3,64	0,26
6	4,07	3,87	0,20	3,88	0,19
7	4,04	3,83	0,21	3,84	0,20
8	3,72	3,44	0,28	3,45	0,27
9	7,75	7,76	0,01	7,74	0,01
$ \overline{\Delta\delta} $			0,21(8)		0,20(6)
\overline{D}			0,06		0,05

A figura 4.7 apresenta outros dois isómeros do composto 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina, os diastereoisómeros *sin,anti*, identificados por **sa1** e **sa2**.

Comparando os valores de desvio químico obtidos experimentalmente para o composto **8a** (tabela 4.8) e para o composto **8b** (tabela 4.9) com os valores obtidos teoricamente para os isómeros **sa1** e **sa2**, obteve-se o valor de \bar{D} de 0,08 para todas as comparações.

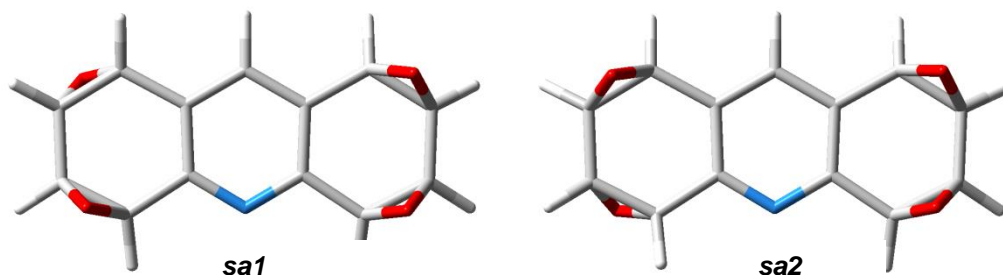


Fig. 4.7 – Estrutura 3D de dois isómeros *sin,anti* da molécula 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina, **sa1** e **sa2**.

Tabela 4.8 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto **8a** com os valores teóricos dos isómeros *sin,anti*, **sa1** e **sa2**.

H	δ 8a exp (ppm)	δ sa1 teórico (ppm)	$ \Delta _{sa1}$	δ sa2 teórico (ppm)	$ \Delta _{sa2}$
1	3,71	3,83	0,12	3,81	0,10
2	4,04	3,66	0,38	3,66	0,38
3	4,07	3,71	0,36	3,72	0,35
4	3,89	3,92	0,03	3,95	0,06
5	3,89	3,67	0,22	3,71	0,18
6	4,07	3,90	0,17	3,91	0,16
7	4,04	3,87	0,17	3,86	0,18
8	3,71	3,52	0,19	3,49	0,22
9	7,76	8,00	0,24	8,00	0,24
$ \Delta\delta $			0,20(9)	0,20(8)	
\bar{D}			0,08	0,08	

δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

Tabela 4.9 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto **8b** com os valores teóricos dos isómeros *sin,anti*, **sa1** e **sa2**.

H	δ 8b exp (ppm)	δ sa1 teórico (ppm)	$ \Delta _{sa1}$	δ sa2 teórico (ppm)	$ \Delta _{sa2}$
1	3,72	3,83	0,11	3,81	0,09
2	4,04	3,66	0,38	3,66	0,38
3	4,07	3,71	0,36	3,72	0,35
4	3,90	3,92	0,02	3,95	0,05
5	3,90	3,67	0,23	3,71	0,19
6	4,07	3,90	0,17	3,91	0,16
7	4,04	3,87	0,17	3,86	0,18
8	3,72	3,52	0,20	3,49	0,23
9	7,75	8,00	0,25	8,00	0,25
$ \overline{\Delta\delta} $			0,21(0)	0,20(9)	
\overline{D}			0,08	0,08	

δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

A figura 4.8 apresenta os restantes dois isómeros da 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina, isómeros *sin,sin*, que estão identificadas por **ss1** e **ss2**.

Comparando os valores dos desvios químicos de RMN de ^1H obtidos experimentalmente para o composto **8a** com os valores obtidos teoricamente para os isómeros **ss1** e **ss2** (tabela 4.10), obteve-se um valor de \overline{D} de 0,11 para a comparação com os valores da molécula **ss1** e de 0,12 para a comparação com os valores da molécula **ss2**.

Para o composto **8b** (tabela 4.11), o valor de \overline{D} obtido na comparação com os desvios do isómero **ss1** foi de 0,12 enquanto para os desvios do isómero **ss2** foi de 0,13.

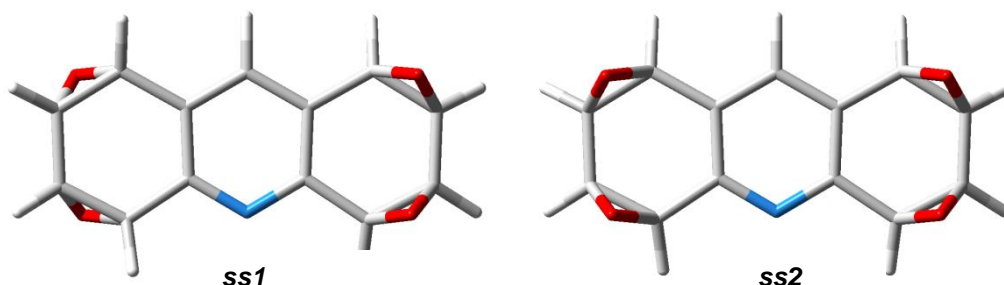


Fig. 4.8 – Estrutura 3D de dois isómeros *sin,sin* da molécula 1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepoxiacridina, **ss1** e **ss2**.

Tabela 4.10 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto **8a** com os valores teóricos dos isómeros *sin, sin*, **ss1** e **ss2**.

H	δ 8a exp (ppm)	δ ss1 teórico (ppm)	$ \Delta _{ss1}$	δ ss2 teórico (ppm)	$ \Delta _{ss2}$
1	3,71	3,88	0,17	3,88	0,17
2	4,04	3,69	0,35	3,68	0,36
3	4,07	3,74	0,33	3,73	0,34
4	3,89	4,01	0,12	3,99	0,10
5	3,89	4,01	0,12	3,99	0,10
6	4,07	3,74	0,33	3,73	0,34
7	4,04	3,69	0,35	3,68	0,36
8	3,71	3,88	0,17	3,88	0,17
9	7,76	8,26	0,50	8,24	0,48
$ \overline{\Delta\delta} $			0,27(1)		0,26(9)
\overline{D}			0,11		0,12

δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

Tabela 4.11 – Comparação dos valores de δ de RMN de ^1H experimentais do composto **8b** com os valores teóricos dos isómeros *sin, sin*, **ss1** e **ss2**.

H	δ 8b exp (ppm)	δ ss1 teórico (ppm)	$ \Delta _{ss1}$	δ ss2 teórico (ppm)	$ \Delta _{ss2}$
1	3,72	3,88	0,16	3,88	0,16
2	4,04	3,69	0,35	3,68	0,36
3	4,07	3,74	0,33	3,73	0,34
4	3,90	4,01	0,11	3,99	0,09
5	3,90	4,01	0,11	3,99	0,09
6	4,07	3,74	0,33	3,73	0,34
7	4,04	3,69	0,35	3,68	0,36
8	3,72	3,88	0,16	3,88	0,16
9	7,75	8,26	0,51	8,24	0,49
$ \overline{\Delta\delta} $			0,26(8)		0,26(6)
\overline{D}			0,12		0,13

δ exp: valores de δ obtidos experimentalmente.

A análise de todos os resultados e desvios absolutos médios calculados indicou que os compostos **8a** e **8b** se tratam dos dois isómeros *anti, anti* (**aa1** e **aa2**), não podendo ser estruturas *anti, sin* ou *sin, sin*.

No entanto, estes estudos não permitiram distinguir entre os dois isómeros **aa1** e **aa2** e esta distinção foi apenas baseada nos resultados experimentais como indicado no capítulo III, nomeadamente os compostos foram distinguidos por comparação dos desvios químicos dos prótons H-1 e H-8 ou H-4 e H-5 nos espectros de RMN de ^1H ,

que são menores para **8a** que para **8b**. Também o rendimento cerca de duas vezes maior para o isómero **8a** do que para o isómero **8b**, indica que o primeiro se trata do isómero **aa1** já que, ao contrário do isómero **aa2**, pode apresentar-se na forma de dois enantiómeros (figura 4.9).

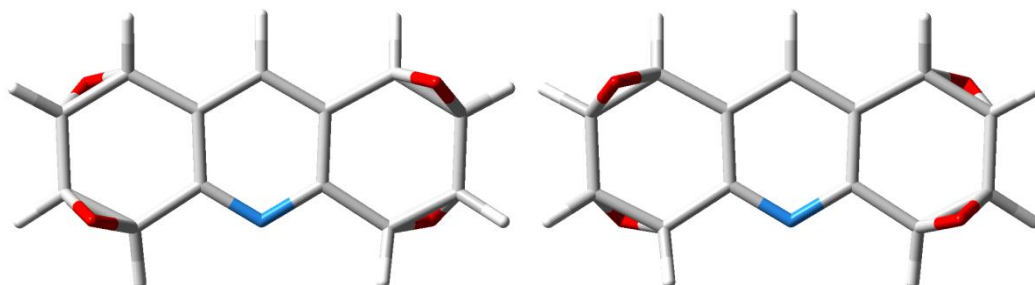


Fig. 4.9 –Estrutura 3D dos dois isómeros ópticos do composto **8a**.

4.2 Estudos de reatividade

Para além dos estudos de simulação de RMN de ^1H , também se efetuaram cálculos de potencial eletrostático (ESP) e de superfícies de isodensidade eletrónica para a acridina (**1**), a 1:2-epoxiacridina (**2**), 3:4-epoxiacridina (**2a**) e para a *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (**4**).

A partir dos cálculos de ESP foi possível obter o valor da carga potencial parcial de cada átomo nas diferentes moléculas. Os mapas de potencial eletrostático foram obtidos sobre uma superfície de isodensidade de $0,0004 \text{ e/a}_0^3$.

4.2.1 Epoxidação versus hidroxilação

A reação da espécie ativa da metaloporfirina com centros ricos em eletrões, como ligações duplas ou sistemas aromáticos, envolve um ataque eletrófilo do oxigénio na espécie ativa ao sistema π do substrato. Vários mecanismos têm sido propostos para estas reações^[83]. Em particular, na oxidação de sistemas aromáticos foram observadas reações de epoxidação e de hidroxilação aromática catalisadas por metaloporfirinas e tem sido discutido se os derivados hidroxilados resultam de uma epoxidação inicial do sistema aromático seguida de rearranjo do anel de epóxido para formar o derivado hidroxilado com recuperação da aromaticidade ou se, por outro lado, resultam de uma reação de hidroxilação direta^[16].

As reações de epoxidação estão associadas a um ataque eletrófilo à densidade eletrónica entre os dois carbonos do sistema π ^[7] enquanto as reações de hidroxilação têm sido explicadas por um mecanismo como o descrito na figura 4.10^[28].

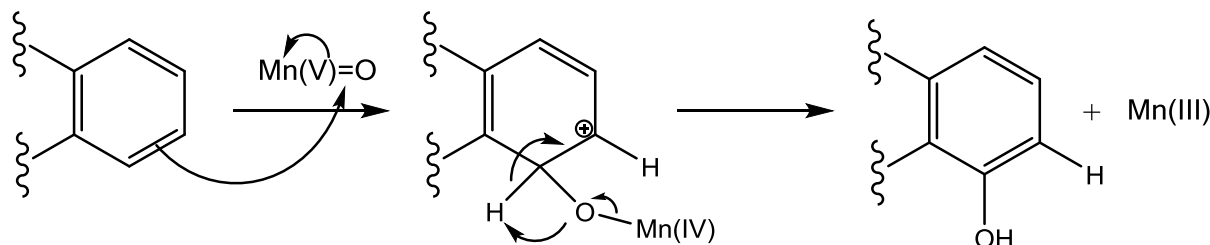


Fig. 4.10 – Mecanismo da reação de hidroxilação catalisada pela metaloporfirina $[\text{Mn}(\text{TDCPP})\text{Cl}]$.

Com o objetivo de compreender a obtenção do mono-epóxido exclusivamente na posição 1:2 e não na posição 3:4, assim como a obtenção de 4-hidroxiacridina como único derivado hidroxilado, levantou-se a questão se a distribuição da densidade eletrónica na molécula de acridina poderia justificar a ocorrência desta reatividade.

Foi então calculada a carga parcial dos átomos da molécula e simulado um mapa de potencial eletrostático sobre uma superfície de isodensidade eletrónica, com o objetivo de compreender o que ocorre na reação.

Na figura 4.11 encontra-se a superfície com o valor de isodensidade eletrónica de $0,0004 \text{ e/a}_0^3$, obtida para a acridina, onde a cor varia consoante o potencial eletrostático (numa escala em que o azul corresponde ao valor máximo de $0,02000 \text{ eV}$ e o vermelho ao valor mais negativo de $-0,02000 \text{ eV}$). Apesar da imagem do mapeamento indicar que o potencial eletrostático nas posições 1 e 2 é mais uniformemente distribuído entre os dois átomos de carbono do que nas posições 3 e 4, a imagem não permitia obter uma análise conclusiva.

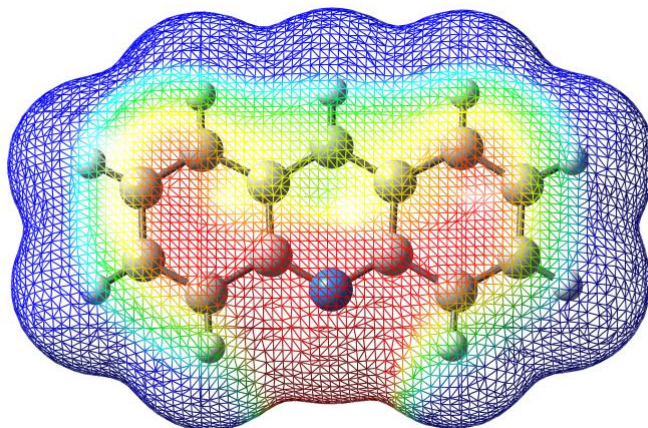


Fig. 4.11 – Mapa de potencial eletrostático sobre a superfície de isodensidade de $0,0004 \text{ e/a}_0^3$ da acridina (1).

Na figura 4.12 estão apresentados os valores de carga de cada átomo na acridina (**1**). Analisando agora esta figura observa-se que os átomos de carbono C-1 e C-2 têm cargas aproximadas de -0,151 eV e -0,177 eV, respetivamente, enquanto o carbono C-3 e C-4 têm cargas de -0,079 eV e -0,351 eV, respetivamente. A partir destes valores entende-se que a distribuição de densidade eletrónica entre o carbono C-1 e C-2 é mais uniforme do que a distribuição da densidade entre o carbono C-3 e C-4, em que esta se encontra mais concentrada no átomo de carbono C-4 devido à influência do átomo de azoto.

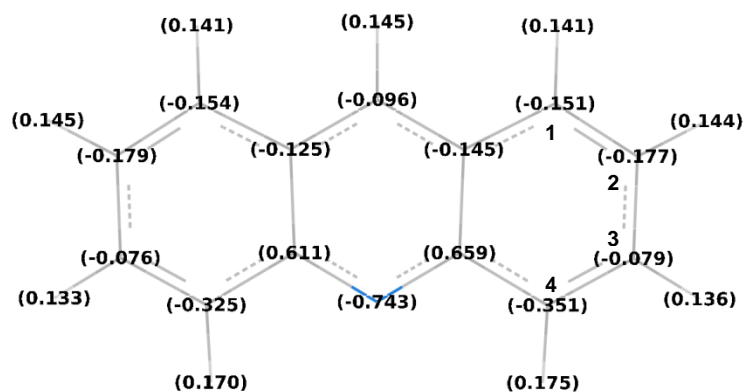


Fig. 4.12 – Valores de carga potencial ESP calculados para a molécula da acridina (**1**).

Estes valores indicam que, na reação, o ataque eletrófilo poderá ser mais favorecido na posição 1:2 do que na posição 3:4 devido à distribuição mais uniforme da nuvem eletrónica π entre os dois átomos de carbono o que permite justificar o maior rendimento do composto **2** relativamente ao composto **3**. No entanto não é possível confirmar a ocorrência do mecanismo do tipo descrito na figura 4.10 para formação direta do derivado hidroxilado.

Determinaram-se seguidamente os valores de carga de cada átomo para os dois isómeros da monoepoxiacridina **2** e **2a** (figuras 4.13 e 4.14). Os valores obtidos indicam que a diferença de carga entre os carbonos 3 e 4 é significativamente maior do que entre os carbonos 1 e 2 o que justifica uma maior tendência para a abertura do anel de epóxido no composto **2a** relativamente ao composto **2**, com a formação do derivado hidroxilado exclusivamente na posição 4.

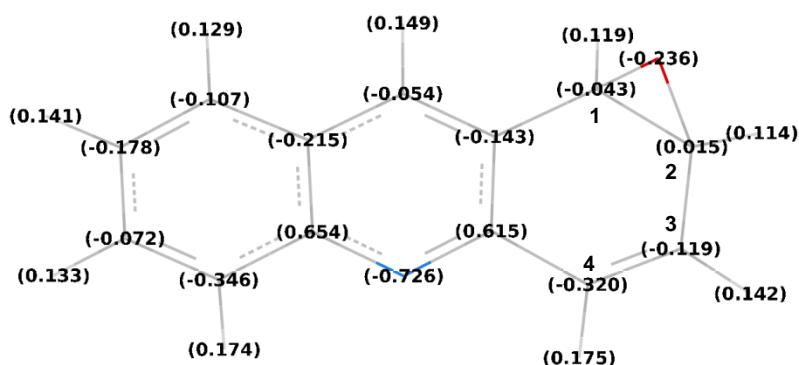


Fig. 4.13 – Valores de carga potencial ESP calculados para a molécula da 1:2-epoxiacridina (2).

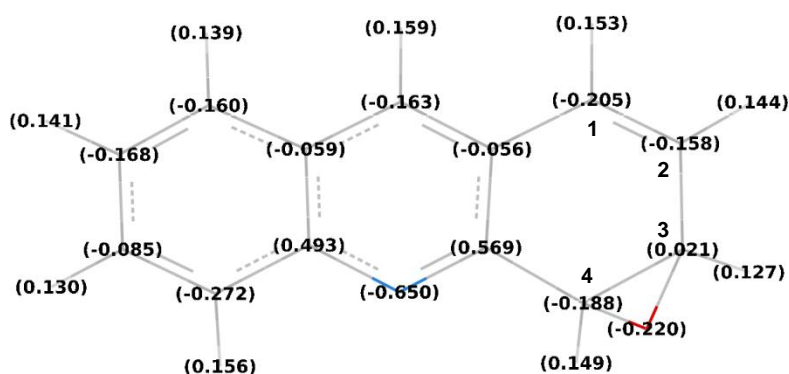


Fig. 4.14 – Valores de carga potencial ESP calculados para a molécula da 3:4-epoxiacridina (2a).

4.2.2 Abertura do anel de epóxido por nucleófilos

Para ocorrer um ataque nucleófilo para abertura de epóxido, é necessário que haja um carbono adjacente ao epóxido com carga parcial positiva. Na figura 4.15 estão apresentadas duas perspectivas diferentes da superfície de isodensidade eletrónica, de $0,0004 \text{ e/a}_0^3$, da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4). Mais uma vez, o azul corresponde ao valor máximo, de $0,00420 \text{ eV}$, e o vermelho ao valor mais negativo, de $-0,00420 \text{ eV}$. Na figura 4.16 estão apresentados os valores da carga potencial de cada um dos átomos da molécula.

A partir da análise das figuras, observa-se que apenas o carbono C-1 tem carga positiva, de $0,096 \text{ eV}$, indicando que será este o carbono a sofrer o ataque nucleófilo que ocorrerá de uma forma seletiva.

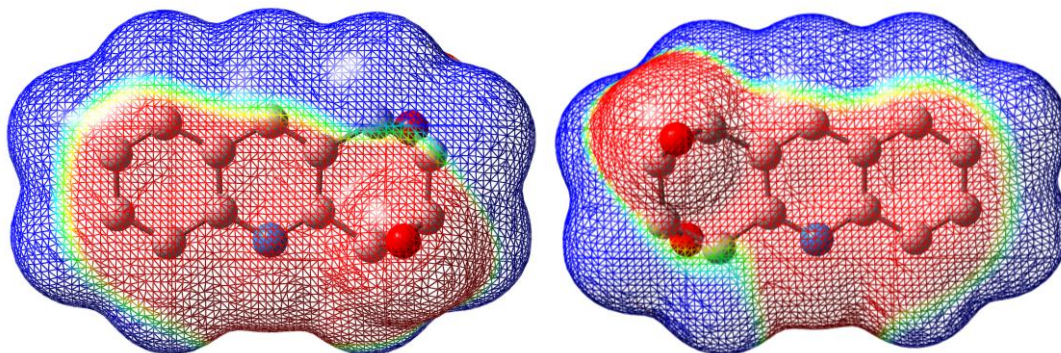


Fig. 4.15 – Mapa de potencial eletrostático sobre uma superfície de isodensidade de $0,0004 \text{ e/a}_0^3$ *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4).

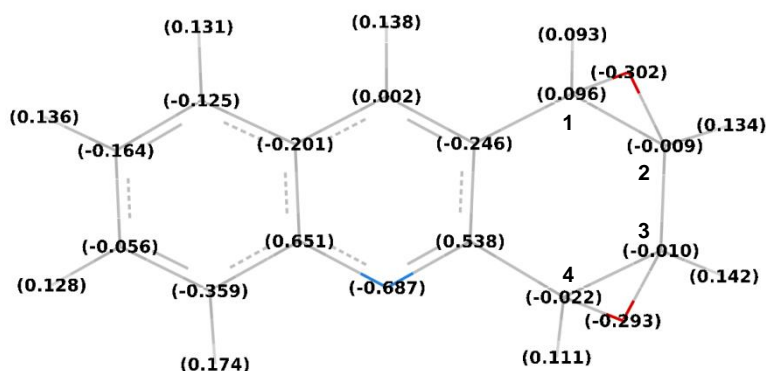


Fig. 4.16 – Valores de carga potencial ESP calculados para a molécula da *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina (4).

Este estudo teórico é coerente com a reação experimental, em que se fez reagir a *anti*-1:2,3:4-diepoxiacridina com a 4-etilanilina em micro-ondas. Esta reação está representada na figura 4.17, em que está esquematizado o ataque do par de eletrões não compartilhado do azoto ao carbono positivo da 1:2,3:4-diepoxiacridina, formando-se o derivado 1-(4'-etilfenilamino)-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina.

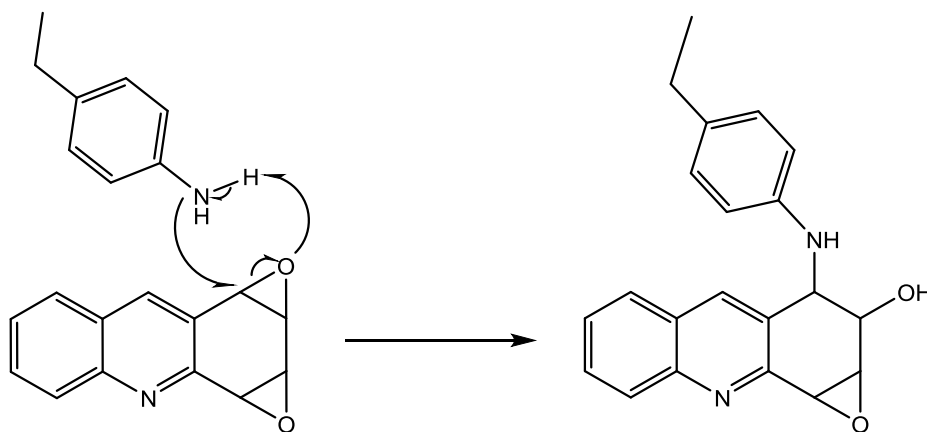


Fig. 4.17 – Esquema da reação de abertura de epóxido na 1:2,3:4-diepoxiacridina pela 4-etilanilina.

Para além desta reação, os compostos 1-acetoxi-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**6**) e 1-amónio-3:4-epoxi-2-hidroxiacridina (**7**), obtidos na oxidação da acridina, são claramente resultantes da abertura do epóxido; também aqui se verifica a abertura na posição do carbono C-1.

Considerações Finais

Considerações Finais

No trabalho descrito, o composto heteroaromático policíclico acridina foi oxidado eficientemente e em condições suaves, a partir da aplicação de um sistema de catálise biomimética oxidativa baseado na catálise com uma metaloporfirina de Mn(III).

Num único passo reacional e utilizando peróxido de hidrogénio como oxidante “verde” foram obtidos vários novos produtos funcionalizados nas posições periféricas da acridina, nomeadamente o 1:2-monoepóxido, *anti* e *sin* 1:2,3:4-diepóxidos, e *anti,anti*-1:2,3:4,5:6,7:8-tetraepóxidos e ainda um composto hidroxilado.

Aumentando o tempo de reação, a quantidade de peróxido de hidrogénio adicionado e diminuindo a razão substrato-catalisador foi possível obter maiores rendimentos isolados dos tetraepóxidos, assim como produtos resultantes da abertura de um dos anéis de epóxido do composto diepoxidado por ataque nucleófilo pelo ião acetato ou pela amónia provenientes do cocatalisador. A funcionalização do diepóxido com nucleófilos ocorre de forma seletiva e com 100% de conversão como foi verificado pela reação deste com a 4-etilanilina em refluxo de acetonitrilo, após 10 minutos de aquecimento em micro-ondas.

Esta facilidade de abertura de epóxido mostra que estes novos compostos são fáceis de funcionalizar, podendo então obter-se diversos compostos novos ou já existentes.

Atendendo ao reduzido número de reações descritas para a funcionalização direta da acridina, nomeadamente para as reações de oxidação, é evidente que estes novos derivados são compostos de grande interesse para aplicações biológicas e fotoquímicas, na medida em que tornam possível a obtenção de um variado leque de compostos derivados da acridina (novos ou já existentes) a partir de novas vias de síntese, essencialmente mais ecológicas.

É importante referir também que a formação do diepóxido é diastereoseletiva para o isómero *anti*, tendo-se observado uma razão *anti* : *sin* = 4. Foram realizados estudos teóricos computacionais que mostraram, entre outras particularidades, o facto dos compostos epóxidos obtidos apresentarem uma estrutura plana. Esta característica é a característica fundamental na utilização de derivados da acridina na prevenção do desenvolvimento de tumores, pois permite a intercalação das moléculas na cadeia de ADN, entre pares de bases azotadas. Desta forma, estes novos compostos podem impulsionar novas vias de síntese para a obtenção destes compostos

anticancerígenos, ou mesmo a obtenção de novos derivados de maior seletividade biológica.

Por outro lado, os epóxidos derivados dos compostos aromáticos policíclicos são conhecidos por serem metabolitos cancerígenos, sintetizados no organismo pela ação das enzimas. Assim sendo, os epóxidos obtidos neste trabalho poderão ser utilizados em estudos de reações mutagénicas, em que estes compostos se ligam a bases azotadas da cadeia de ADN.

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

- [1] M. M. Pereira, J. Faria, *Catalysis from Theory to Application*, Imprensa da Universidade de Coimbra, **2008**;
- [2] I. Chorkendorff, J. W. Niemantsverdriet, *Concepts of Modern Catalysis and Kinetics*, Wiley, **2007**;
- [3] R. Noyori, M. Aoki, K. Sato, *Chem. Commun.* **2003**, 16, 1977;
- [4] S.-I. Murahashi, *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* **2011**, 87, 242;
- [5] L. Marchetti, M. Levine, *ACS Catal.* **2011**, 1, 1090;
- [6] A. M. d'A. R. Gonsalves, M. M. Pereira, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1996**, 113, 209;
- [7] K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds), *The Porphyrin Handbook: Vol 4, Biochemistry and binding: activation of small molecules*, Academic Press, Nova Iorque, **2000**;
- [8] A. Cagnina, S. Campestri, F. D. Furia, P. Ghiotti, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1998**, 130, 221;
- [9] R. R. L. Martins, M. G. P. M. S. Neves, A. J. D. Silvestre, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **1999**, 137, 41;
- [10] S. Evans, J. R. L. Smith, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **2000**, 7, 1541;
- [11] S. L. H. Rebelo, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2003**, 201, 9;
- [12] R. Saladino, V. Neri, A. R. Pelliccia, E. Mincione, *Tetrahedron* **2003**, 59, 7403;
- [13] S. L. H. Rebelo, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, *Chem. Commun.* **2004**, 10, 608;
- [14] S. L. H. Rebelo, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, A. F. Peixoto, M. M. Pereira, M. R. Silva, J. A. Paixão, A. M. Beja, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 23, 4778;
- [15] C. M. B. Neves, M. M. Q. Simões, I. C. M. S. Santos, F. M. J. Domingues, M. G. P. M. S. Neves, F. A. A. Paz, A. M. S. Silva, J. A. S. Cavaleiro, *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 2898;
- [16] P. Costa, M. Linhares, S. L. H. Rebelo, M. G. P. M. S. Neves, C. Freire, *RSC Adv.* **2013**, 3, 5350;
- [17] S. L. H. Rebelo, A. R. Gonçalves, M. M. Pereira, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2006**, 256, 321;
- [18] B. Meunier, em *Metalloporphyrins Catalysed Oxidations*, F. Montanari, L. Casela (Eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **1994**;
- [19] T. Li, H. L. Bonkovsky, J. T. Guo, *BMC Struct. Biol.* **2011**, 11, 13;
- [20] P. R. O. de Montellano, *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*, 3rd Ed, Plenum Publishing, Nova Iorque, **2005**;
- [21] W. Lohmann, U. Karst, *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, 391, 79;
- [22] D. F. Shriver, P. W. Atkins, *Inorganic Chemistry*, 3rd Ed, Oxford University Press, Nova Iorque, **1999**;

- [23] R. M. Roat-Malone, *Bioinorganic Chemistry: A Short Course*, Wiley, Nova Iorque, **2003**;
- [24] J. Bernadou, B. Meunier, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, 346, 171;
- [25] T. Hendrychová, E. Anzenbacherová, J. Hundeczek, J. Skopalík, R. Lange, P. Hildebrandt, M. Otyepka, P. Anzenbacher, *Biochim. Biophys. Acta* **2011**, 1814, 58;
- [26] M. E. Ener, Y.-T. Lee, J. R. Winkler, H. B. Gray, L. Cheruzel, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2010**, 107, 18783;
- [27] E. I. Ochiai, *Bioinorganic Chemistry: A Survey*, Elsevier Inc., **2010**;
- [28] K. Nakamura, M. V. Martin, F. P. Guengerich, *Arch. Biochem. Biophys.* **2001**, 395, 25;
- [29] S. P. de Visser, S. Shaik, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 7413;
- [30] S. L. H. Rebelo, M. M. Pereira, P. V. Monsanto, H. D. Burrows, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2009**, 297, 35;
- [31] C. M. B. Neves, Tese de Mestrado, *Oxidação biomimética de fármacos*, Universidade de Aveiro, **2010**;
- [32] D. L. Lanza, E. Code, C. L. Crespi, F. J. Gonzalez, G. S. Yost, *Drug Metab. Dispos.* **1999**, 27, 798;
- [33] E. M. J. Gillam, L. M. Notley, H. Cai, J. J. de Voss, F. P. Guengerich, *Biochemistry* **2000**, 39, 13817;
- [34] Z. X. Yuan, S. Kumar, H. C. Sikka, *Chem. Res. Toxicol.* **2004**, 17, 672;
- [35] K. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard (Eds.), *The Porphyrin Handbook: Vol.1, Synthesis and organic chemistry*, Academic Press, Nova Iorque, **2000**;
- [36] N. Kobayashi, *Coord. Chem. Rev.* **2002**, 227, 129;
- [37] P.-C. Lo, X. Leng, D. K. P. Ng, *Coord. Chem. Rev.* **2007**, 251, 2334;
- [38] F. S. Vinhado, P. R. Martins, A. P. Masson, D. G. Abreu, E. A. Vidoto, O. R. Nascimento, Y. Iamamoto, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2002**, 188, 141;
- [39] D. P. Arnold, E. A. Morrison, J. V. Hanna, *Polyhedron* **1990**, 9, 1331;
- [40] D. P. Arnold, J. Blok, *Coord. Chem. Rev.* **2004**, 248, 299;
- [41] L. Giribabu, J. Kandhadi, R. K. Kanaparthi, P. S. Reeta, *J. Lumin.* **2013**, 145, 357;
- [42] N. Abedian, H. Dehghani, *Inorg. Chem. Commun.* **2013**, 36, 77;
- [43] K. M. Smith, *Porphyrins and Metalloporphyrins*, Elsevier, Amsterdão, **1975**;
- [44] J. T. Groves, *J. Porphyrins Phthalocyanines* **2000**, 4, 350;
- [45] J. A. S. Cavaleiro, G. M. S. F. C. Nascimento, M. G. P. M. S. Neves, M. T. Pinto, A. J. D. Silvestre, M. G. H. Vicente, *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 1893;
- [46] P. A. MacFaul, I. W. C. E. Arends, K. U. Ingold, D. D. M. Wayner, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1997**, 135;
- [47] J.-F. Bartoli, V. Mouries-Mansuy, K. L. Barch-Ozette, M. Palacio, P. Battioni, D. Mansuy, *Chem. Commun.* **2000**, 10, 827;
- [48] R. R. L. Martins, M. G. P. M. S. Neves, A. J. D. Silvestre, M. M. Q. Simões, A. M. S. Silva, A. C. Tomé, J. A. S. Cavaleiro, P. Tagliatesta, C. Crestini, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2001**, 172, 33;

- [49] S. L. H. Rebelo, M. M. Pereira, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, J. A. S. Cavaleiro, *J. Catal.* **2005**, 234, 76;
- [50] S. L. H. Rebelo, M. M. Q. Simões, M. G. P. M. S. Neves, A. M. S. Silva, P. Tagliatesta, J. A. S. Cavaleiro, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2005**, 232, 135;
- [51] R. M. Acheson, *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: Acridines*, Wiley, Nova Iorque, **1973**;
- [52] K. Inami, M. Nagao, S. Ishikawa, M. Mochizuki, *Genes and Environ.* **2010**, 32, 7;
- [53] L. M. Oppegard, A. V. Ougolkov, D. N. Luchini, R. A. Schoon, J. R. Goodell, H. Kaur, D. D. Billadeau, D. M. Ferguson, H. Hiasa, *Eur. J. Pharmacol.* **2009**, 602, 223;
- [54] M. Ouberaï, C. Asche, D. Carrez, A. Croisy, P. Dumy, M. Demeunynck, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, 16, 4641;
- [55] M. Wainwright, *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**, 47, 1;
- [56] P. Belmont, J. Bosson, T. Godet, M. Tiano, *Anticancer Agents Med. Chem.* **2007**, 7, 139;
- [57] W. A. Denny, *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9, 1655;
- [58] P. Yang, Q. Yang, X. Qian, L. Tong, X. Li, *J. Photochem. Photobiol., B* **2006**, 84, 221;
- [59] C. Di Giorgio, A. Nikoyan, L. Decome, C. Botta, M. Robin, J. P. Reboul, A. S. Sabatier, A. Matta, M. De Méo, *Mutat. Res.* **2008**, 650, 104;
- [60] E. Pastwa, E. Ciesielska, M. K. Piestrzeniewicz, W. A. Denny, M. Gniazdowski, L. Szmigiero, *Biochem. Pharmacol.* **1998**, 56, 351;
- [61] L. R. Ferguson, W. A. Denny, *Mutat. Res.* **1991**, 258, 123;
- [62] L. S. Lerman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1963**, 49, 94;
- [63] G. Moloney, D. Kelly, P. Mack, *Molecules* **2001**, 6, 230;
- [64] G. Cholewinski, K. Dzierzbicka, A. M. Kolodziejczyk, *Pharmacol. Rep.* **2011**, 63, 305;
- [65] M. H. S. Kraak, C. Ainscough, A. Fernández, P. L. A. van Vlaardingen, P. de Voogt, W. A. Admiraal, *Aquat. Toxicol.* **1997**, 37, 9;
- [66] C. Manivannan, S. Sambathkumar, R. Renganathan, *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* **2013**, 114, 316;
- [67] Z. Zawada, M. Šafařík, E. Dvořáková, O. Janoušková, A. Březinová, I. Stibor, K. Holada, P. Bouř, J. Hlaváček, J. Sebestík, *Amino Acids* **2013**, 44, 1279;
- [68] K. Papadopoulos, D. Dimotikali, J. Nikokavouras, *J. Photochem. Photobiol., A* **1997**, 103, 51;
- [69] I. Negrón-Encarnación, R. Arce, *Atmos. Environ.* **2007**, 41, 6771;
- [70] P. Nikolov, H. Görner, *J. Photochem. Photobiol., A* **1996**, 101, 137;
- [71] P. Kaewsuya, J. D. Miller, N. D. Danielson, J. Sanjeevi, P. F. James, *Anal. Chim. Acta* **2008**, 626, 111;
- [72] S. Bi, C. Qiao, D. Song, Y. Tian, D. Gao, Y. Sun, H. Zhang, *Sens. Actuators, B* **2006**, 119, 199;
- [73] C. Dodeigne, L. Thunus, R. Lejeune, *Talanta* **2000**, 51, 415;

- [74] M. Wu, W. Wu, X. Gao, X. Lin, Z. Xie, *Talanta* **2008**, 75, 995;
- [75] A. K. Ghosh, C. Ghosh, A. Gupta, *J. Agric. Food Chem.* **2013**, 61, 3814;
- [76] R. Bos, N. W. Barnett, G. A. Dyson, R. A. Russel, *Anal. Chim. Acta* **2002**, 454, 147;
- [77] Y. Lu, S. Huang, Y. Liu, S. He, L. Zhao, X. Zeng, *Org. Lett.* **2011**, 13, 5274;
- [78] L. J. P. van den Broeke, V. G. de Bruijn, J. H. M. Heijnen, J. T. F. Keurentjes, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2001**, 40, 5240;
- [79] G. L. Borosky, K. K. Laali, *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 2234;
- [80] (a) A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648; (b) A. D. Becke, *Phys. Rev. A* **1988**, 38, 3098; (c) C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **1988**, 37, 785;
- [81] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, Ö. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian 09*, Revision A.1, Gaussian, Inc., Wallingford CT, **2009**;
- [82] B. Mennucci, E. Cancès, J. Tomasi, *J. Phys. Chem. B* **1997**, 101, 10506;
- [83] S. L. H. Rebelo, Tese de Doutoramento, *Metaloporfirinas: síntese e oxidação catalítica de compostos orgânicos com peróxido de hidrogénio*, Universidade de Aveiro, **2004**.